MIKROCHEMIE

VEREINIGT MIT

MIKROCHIMICA ACTA

SCHRIFTLEITUNG:

A. A. BENEDETTI-PICHLER
NEW YORK

F. SCHNEIDER
NEW YORK

M. K. ZACHERL
WIEN

BAND XXXIV, ERSTES HEFT
MIT 30 TEXTABBILDUNGEN
ABGESCHLOSSEN AM 15. AUGUST 1948

WIEN
SPRINGER-VERLAG
1948

Mikrochem.

Die Zeitschrift

„Mikrochemie vereinigt mit Mikrochimica Acta"

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen. Diese Hefte werden zu Bänden von 20—25 Bogen vereinigt. Der Preis eines Heftes richtet sich nach seinem Umfang und nach den entstandenen Herstellungskosten. Für Lieferungen in das Ausland gelten Auslandspreise.

In der Regel können Originalarbeiten (in deutscher, englischer oder französischer Sprache) nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als einen Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen.

Die für die Zeitschrift bestimmten Manuskripte sind zu senden

an die Schriftleitung der „Mikrochemie vereinigt mit Mikrochimica Acta"
(Springer-Verlag), Wien I, Mölkerbastei 5.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht, und zwar bis zum 31. Dezember desjenigen Jahres, das auf das Jahr des Erscheinens folgt. Es können somit grundsätzlich nur Arbeiten aufgenommen werden, die vorher weder im Inlande noch im Auslande veröffentlicht worden sind und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen sich der Verfasser verpflichtet.

Die Verfasser erhalten eine *Fahnenkorrektur;* Revisionen können grundsätzlich nicht geliefert werden. Bei Beiträgen von in weit entfernten oder überseeischen Ländern wohnenden Mitarbeitern werden die Korrekturen dieser Beiträge im Interesse eines beschleunigten Erscheinens von der Schriftleitung gelesen. Wird jedoch die Übersendung von Fahnenabzügen zur Korrektur gewünscht, so muß die sich daraus ergebende spätere Veröffentlichung von dem Verfasser in Kauf genommen werden.

Die Verfasser erhalten von ihren Abhandlungen 75 Sonderdrucke unentgeltlich. Weitere 125 Exemplare werden, falls rechtzeitig bei Rücksendung der Korrektur bestellt, gegen angemessene Entschädigung geliefert.

Die Manuskripte sollen in klarer Ausdrucksweise und unter Hinweglassung jedes überflüssigen Ballastes abgefaßt sein. Von Abbildungen ist sehr sparsamer Gebrauch zu machen, da sie die Drucklegung der Beiträge verzögern und auch den Preis der Zeitschrift verteuern. Die Vorlagen für Abbildungen sind auf besonderen Blättern erwünscht und können entweder in Reinzeichnungen (Beschriftung nur in Bleistift ausführen) oder in klaren verständlichen Handskizzen bestehen. Die Beschriftung und nötigenfalls die Reinzeichnung nimmt der Verlag vor.

Springer-Verlag, Wien I, Mölkerbastei 5

Fernsprecher: U 26-5-60 Serie — Telegrammadresse Springerbuch Wien

XXXIV. Band — Inhaltsverzeichnis — 1. Heft

Seite

Larsen, Junius, Norman F. Witt and Charles F. Poe. Optical Crystallographic Identification of some Amino Acids with 2-Nitroindandione-1,3 ... 1

Kofler, A. Zur Polymorphie organischer Verbindungen ... 15

Fürst, K. Ein mikroanalytischer Nachweis des Glycerins mit 2,7-Dioxynaphthalin ... 25

Gorbach, G. Anwendung von Mikromethoden auf dem Fettgebiet XII. Die Seifenanalyse ... 30

Benedetti-Pichler A. A. Mikrogrammverfahren ... 39

Beck, G. Zur Biochemie des Scandiums und über seine Abscheidung als Phytat ... 62

Lindner, Josef. Fehlerquellen in der organischen Elementaranalyse XII. Über Wägungen und Waagen ... 67

Buchbesprechungen ... 106

Mitteilungen aus mikrochemischen Gesellschaften ... 112

MIKROCHEMIE

VEREINIGT MIT

MIKROCHIMICA ACTA

SCHRIFTLEITUNG:

A. A. BENEDETTI-PICHLER
NEW YORK

F. SCHNEIDER
NEW YORK

M. K. ZACHERL
WIEN

XXXIV. BAND

WIEN
SPRINGER-VERLAG
1949

Inhaltsverzeichnis.

Erstes Heft.

(Abgeschlossen am 15. August 1948.)

Seite

Larsen, Junius, Norman F. Witt and **Charles F. Poe.** Optical Crystallographic Identification of some Amino Acids with 2-Nitroindandione-1,3 1

Kofler, A. Zur Polymorphie organischer Verbindungen 15

Fürst, K. Ein mikroanalytischer Nachweis des Glycerins mit 2,7-Dioxynaphthalin 25

Gorbach, G. Anwendung von Mikromethoden auf dem Fettgebiet XII. Die Seifenanalyse 30

Benedetti-Pichler A. A. Mikrogrammverfahren 39

Beck, G. Zur Biochemie des Scandiums und über seine Abscheidung als Phytat 62

Lindner, Josef. Fehlerquellen in der organischen Elementaranalyse XII. Über Wägungen und Waagen 67

Buchbesprechungen 106

Mitteilungen aus mikrochemischen Gesellschaften 112

Zweites Heft.

(Abgeschlossen am 1. April 1949.)

Scherbaum, Otto. Neue Beobachtungen über den Anwendungsbereich einer einfachen Mikromethode zur Dichtebestimmung von Flüssigkeiten 123

Niederl, J. B., D. R. Kasanof, G. K. Kisch and **D. Subba Rao.** Molecular Weight Determination by Isothermic Microdistillation 132

Brandstätter, Maria. Zur orientierten Verwachsung von organischen Verbindungen 142

Kirsten, W. Über die Titration von Chlor und Brom mit Mercuriion bei der Halogenbestimmung nach Grote-Krekeler 149

Kirsten, W. Fehlerquellen bei der Sauerstoffbestimmung nach Schütze-Unterzaucher 151

Benedetti-Pichler, A. A. The Precision of Weighings 153

Gorbach, G. und **A. Jurinka.** Eine Mikro-Schnellmethode zur Wasserbestimmung in Lebensmitteln 174

Gorbach, G. Über einen Mikroautoklaven aus Glas 181

Gorbach, G. Über eine Spritzpipette 183

Seite

Gorbach, G. Niederschlagsbehandlung durch Zentrifugieren 185

Gorbach, G. Eine Mikromuffel zum Universalheizstativ nach Gorbach 189

Woldan, A. Silbernachweis in Silikaten 192

Schöniger, W. Notiz zur Verwendung von Kohlensäureschnee für die Stickstoffbestimmung nach Dumas-Pregl 201

Fischer, R. und T. Langhammer. Zur Gutzeitschen Arsenprobe..... 203

Fischer, R. und T. Langhammer. Identifizierung von Metallen durch Brechungsindex-Bestimmung der mit organischen Reagenzien erhaltenen Fällungen 208

Lacourt, A., G. Sommereyns, E. De Geyndt, J. Baruh et J. Gillard. Le Pouvoir séparateur des Solvants organiques dans la Séparation chromatographique quantitative des Composés minéraux à l'Échelle du Gamma..... 215

Buchbesprechungen 224

Mitteilungen aus mikrochemischen Gesellschaften 227

Drittes Heft.

(Abgeschlossen am 15. Juni 1949.)

Poe, Charles F., Norman F. Witt, and Allan S. Snodgrass. Derivatives of Evipal, Alurate, and Phanodorn 235

Benedetti-Pichler, A. A. Suggestions to the Calibration of Weights 241

Fischer, R. und L. Chalupa. Zum Nachweis narkotisch wirkender Substanzen in biologischem Material 257

Flaschka, H. und H. Spitzy. Die gravimetrische und maßanalytische Mikrobestimmung von Kalzium mit Cyanoferrat(II)-Ion..... 269

Leipert, Th. Über die Hypobromitmethode zur Schnellbestimmung des Reststickstoffs 276

Beck, G. Bestimmung des Scandiums mit Chinalizarin und über die Beziehungen des Scandiumpyrophosphates zum Scandiumphytat 282

Erdos, J. Ein Verfahren zur Mikro-Schwefelbestimmung 286

Pantlitschko, M., H. Benger und J. Schmid. Die Bestimmung kleiner Antistiummengen in biologischem Material 289

Schöniger, W. Ein handlicher Wasserstoffentwicklungsapparat 295

Benedetti-Pichler, A. A. Accuracy and Precision of Richards' Method for the Calibration of Weights..... 298

Schöniger, W. Ein Autoklav für kleine Flüssigkeitsmengen..... 316

Fischer, R. und E. Neupauer. Die kritische Mischungstemperatur zur Kennzeichnung und Bestimmung kleinster Flüssigkeitsmengen (II. Mitteilung) 319

Lieb, H. und W. Schöniger. Über Methoden zur Darstellung organischer Präparate mit kleinen Substanzmengen 336

Buchbesprechungen 347

Mitteilungen aus mikrochemischen Gesellschaften..... 350

Viertes Heft.

(Abgeschlossen am 15. Oktober 1949.)

Seite

Larsen, Junius, Charles F. Poe and **Norman F. Witt.** Optical Cristallographic Identification of some Derivatives of Amino Acids with Dilituric Acid 351

Brandstätter, M. und **L. Kofler.** Molekulargewichtsbestimmung unter dem Mikroskop (II. Mitteilung) 364

Kofler, L. und **W. Kofler.** Über eine Heizbank zur raschen Bestimmung des Schmelzpunktes 374

Lindner, J. Zur Reingewinnung von Substanzen durch Teilverflüssigung und Warmabsaugen 382

Malissa, H. Einige Laboratoriumsbehelfe 393

Jurány, H. Eine neue empfindliche Mikroreaktion zum Nachweis von Thallium in Form von Caesium-Thallium-Jodid 398

Ballezo, H. und **J. Sinabell.** Eine neue Methode für die Titerstellung ganz verdünnter Säuren mit Kaliumjodat 404

Jurány, H. Ein neuer spezifischer Nachweis von Zinn (als SnJ_4) 412

Jurány, H. Zum Nachweis der schwefligen Säure und des Schwefeldioxyds 418

Beck, G. Über den Scandiumgehalt einiger Mineral- und Trinkwässer ... 423

Buchbesprechungen 426

Mitteilungen aus mikrochemischen Gesellschaften 431

Autorenverzeichnis.

Ballczo, H. und *Sinabell, J.* Eine neue Methode für die Titerstellung ganz verdünnter Säuren mit Kaliumjodat. S. 404.

Baruh, J. siehe *Lacourt, A.* S. 215.

Beck, G. Bestimmung des Scandiums mit Chinalizarin und über die Beziehungen des Scandiumpyrophosphates zum Scandiumphytat. S. 282.

Beck, G. Über den Scandiumgehalt einiger Mineral- und Trinkwässer. S. 423.

Beck, G. Zur Biochemie des Scandiums und über seine Abscheidung als Phytat. S. 62.

Benedetti-Pichler, A. A. Accuracy and Precision of Richards' Method for the Calibration of Weights. S. 298.

Benedetti-Pichler, A. A. Mikrogrammverfahren. S. 39.

Benedetti-Pichler, A. A. Suggestions to the Calibration of Weigths. S. 241.

Benedetti-Pichler, A. A. The Precision of Weighings. S. 153.

Benger, H. siehe *Pantlitschko, M.* S. 289.

Brandstätter, Maria. Zur orientierten Verwachsung von organischen Verbindungen. S. 142.

Brandstätter, M. und *Kofler, L.* Molekulargewichtsbestimmung unter dem Mikroskop (II. Mitteilung). S. 364.

Chalupa, L. siehe *Fischer, R.* S. 257.

De Geyndt, E. siehe *Lacourt, A.* S. 215.

Erdos, J. Ein Verfahren zur Mikro-Schwefelbestimmung. S. 286.

Fischer, R. und *Chalupa, L.* Zum Nachweis narkotisch wirkender Substanzen in biologischem Material. S. 257.

Fischer, R. und *Langhammer, T.* Identifizierung von Metallen durch Brechungsindexbestimmung der mit organischen Reagenzien erhaltenen Fällungen. S. 208.

Fischer, R. und *Langhammer, T.* Zur Gutzeitschen Arsenprobe. S. 203.

Fischer, R. und *Neupauer, E.* Die kritische Mischungstemperatur zur Kennzeichnung und Bestimmung kleinster Flüssigkeitsmengen (II. Mitteilung). S. 319.

Flaschka, H. und *Spitzy, H.* Die gravimetrische und maßanalytische Mikrobestimmung von Kalzium mit Cyanoferrat (II)-Ion. S. 269.

Fürst, K. Ein mikroanalytischer Nachweis des Glycerins mit 2, 7-Dioxy-Naphthalin. S. 25.

Gillard, J. siehe *Lacourt, A.* S. 215.

Gorbach, G. Anwendung von Mikromethoden auf dem Fettgebiet XII. Die Seifenanalyse. S. 30.

Gorbach, G. Eine Mikromuffel zum Universalheizstativ nach Gorbach. S. 189.

Gorbach, G. Niederschlagsbehandlung durch Zentrifugieren. S. 185.

Gorbach, G. Über eine Spritzpipette. S. 183.

Gorbach, G. Über einen Mikroautoklaven aus Glas. S. 181.

Gorbach, G. und *Jurinka, A.* Eine Mikroschnellmethode zur Wasserbestimmung in Lebensmitteln. S. 174.

Jurány, H. Ein neuer spezifischer Nachweis von Zinn (als SnJ_4). S. 412.

Jurány, H. Eine neue empfindliche Mikroreaktion zum Nachweis von Thallium in Form von Caesium-Thallium-Jodid. S. 398.

Jurány, H. Zum Nachweis der schwefligen Säure und des Schwefeldioxyds. S. 419.

Jurinka, A. siehe *Gorbach, G.* S. 174.

Kasanof, D. R. siehe *Niederl, J. B.* S. 132.

Kirsten, W. Fehlerquellen bei der Sauerstoff-Bestimmung nach Schütze-Unterzaucher. S. 151.

Kirsten, W. Über die Titration von Chlor und Brom mit Merkuri-Ion bei der Halogen-Bestimmung nach Grote-Krekeler. S. 149.

Kisch, G. K. siehe *Niederl, J. B.* S. 132.

Kofler, A. Zur Polymorphie organischer Verbindungen. S. 15.

Kofler, L. siehe *Brandstätter, M.* S. 364.

Kofler, Ludwig und *Kofler, Walter.* Über eine Heizbank zur raschen Bestimmung des Schmelzpunktes. S. 374.

Kofler, Walter siehe *Kofler, Ludwig.* S. 374.

Lacourt, A., Sommereyns, G., De Geyndt, E., Baruh, J. et *Gillard, J.* Le Pouvoir séparateur des Solvants organiques dans la Séparation chromatographique quantitative des Composés minéraux à l'Echelle du Gamma. S. 215.

Langhammer, T. siehe *Fischer, R.* S. 208, 203.

Larsen, Junius, Witt, Norman, F. and *Poe, Charles F.* Optical Christallographic Identification of some Amino Acids with 2-Nitroindandione-1,3. S. 1.

Larsen, Junius, Poe, Charles F. and *Witt, Norman, F.* Optical Christallographic Identification of some Derivatives of Amino Acids with Dilituric Acid. S. 351.

Leipert. Th. Über die Hypobromitmethode zur Schnellbestimmung des Reststickstoffes. S. 276.

Lieb, H. und *Schöniger, W.* Über Methoden zur Darstellung organischer Präparate mit kleinen Substanzmengen. S. 336.

Lindner, Josef. Fehlerquellen in der organischen Elementaranalyse XII. Über Wägungen und Waagen. S. 67.

Lindner, Josef. Zur Reingewinnung von Substanzen durch Teilverflüssigung und Warmabsaugen. S. 383.

Malissa, Hanns. Einige Laboratoriumsbehelfe. S. 393.

Neupauer, E. siehe *Fischer, R.* S. 319.

Niederl, J. B., Kasanof, D. R., Kisch, G. K. and *Subba Rao, D.* Molecular Weight Determination by Isothermic Microdistillation. S. 132

Pantlitschko, M., Benger, H. und *Schmid, J.* Die Bestimmung kleiner Antistinmengen in biologischem Material. S. 289.

Poe, Charles F., Witt, Norman F. and *Snodgrass, Allan S.* Derivatives of Evipal. Alurate and Phanodorn. S. 235.

Poe, Charles F. siehe *Larsen, Junius.* S. 1, 351.

Scherbaum, Otto. Neue Beobachtungen über den Anwendungsbereich einer einfachen Mikromethode zur Dichtebestimmung von Flüssigkeiten. S. 123.

Schmid, J. siehe *Pantlitschko, M.* S. 289.

Schöniger, W. Ein Autoklav für kleine Flüssigkeitsmengen. S. 316.

Schöniger. W. Ein handlicher Wasserstoffentwicklungsapparat S. 295.

Schöniger, W. Notiz zur Verwendung von Kohlensäureschnee für die Stickstoffbestimmung nach Dumas-Pregl. S. 201.

Schöniger, W. siehe *Lieb, H.* S. 336.

Sinabell, J. siehe *Ballczo, H.* S. 404.

Snodgrass, Allan S. siehe *Poe, Charles F.* S. 235.

Sommereyns, G. siehe *Lacourt, A.* S. 215.

Spitzy, H. siehe *Flaschka, H.* S. 269.

Subba Rao, D. siehe *Niederl, J. B.* S. 132.

Witt, Norman F. siehe *Poe, Charles F.* S. 235.

Witt, Norman F. siehe *Larsen, Junius.* S. 1, 351.

Woldan, A. Silbernachweis in Silikaten. S. 192.

College of Pharmacy and Department of Chemistry, University of Colorado, Boulder, Colorado.

Optical Crystallographic Identification of some Amino Acids with 2-Nitroindandion-1,3.

By

Junius Larsen, Norman F. Witt and Charles F. Poe.*

With 19 figures.

(Received February 12, 1948.)

Introduction.

The optical crystallographic identification of a number of organic compounds has been studied in this laboratory[1, 2, 3, 4, 5, 6, 7]. Frequently in biochemical research, it is necessary to detect very small amounts of amino acids. Since optical identifications are specific and require but small amounts of material, it was decided to investigate the optical crystallographic properties of some of the derivatives of a number of amino acids. The derivatives reported in this communication are those derived from the reaction of 2-nitroindandion-1,3 (2-nitro-1,3-diketohydrindene) with different amino acids.

Many of the tests proposed for the detection of a given amino acid are based on the form of the crystals of the amino acid, or that of one of its derivatives. *Surmatis* and *Willard*[8] prepared and photomicrographed the derivatives of a limited number of amino acids with nineteen of the so-called alkaloidal reagents. No optical constants were reported. *Bullock* and *Kirk*[9] prepared the phosphotungstates and phosphomolybdates of nine of the amino acids and described minor optical properties. They made photomicrographs, but did not report refractive indices nor give analyses of the compounds. A few optica -crystallographic properties of some of the amino acids have been reported by *Keenan*.[10, 11]

Flavianates and picrates of amino acids were described by *Crosby* and *Kirk*.[12] Photomicrographs were made of these derivatives. No optical constants were determined for the picrates. The elongations,

* For reprints write the junior author, University of Colorado, Boulder, Colo. USA.

extinction angles, and two refractive indices at the extinction positions were reported for the flavianates. That these may not be the true indices is indicated by the fact that identical values for the flavianates of tyrosine and tryptophane were reported. If these be the true indices, further optical data are necessary for differentiation. Similar data were given by *Cunningham*, *MacIntyre*, and *Kirk*[13] on the copper salts of amino acids, and by *Dunn*, *Inouye*, and *Kirk*[14] on the picrolonates. In the last five reports mentioned above, the authors state that the reactions were carried out on the microscope slide. There is no indication that any of the derivatives were isolated and analyzed.

The above mentioned optical-crystallographic studies are the only ones reported on the amino acids. For quite a long time a number of reagents, besides the one used in the present study, have been employed for the isolation or microscopic identification of amino acids. These reagents include the salts of heavy metals, among which the ones most frequently used are: mercuric chloride, mercuric sulfate, mercuric nitrate, potassium mercuric chloride, potassium zinc iodide, bismuth nitrate, gold chloride, platinic chloride, silver nitrate, cupric chloride, cupric sulfate, cupric oxide, mercuric acetate, zinc oxide, zinc chloride, zinc acetate, and lead nitrate.[15, 16]

Among the more common organic reagents which have been used are acetyl and benzoyl chlorides, phenyl and α-naphthyl isocyanates, and the sulfonyl chlorides such as benzene sulfonyl chloride, β-naphthol sulfonyl chloride, and 4-nitrotoluyl-2-sulfonyl chloride.[15, 17] Other acid chlorides which have been reported more recently are p-toluene sulfonyl chloride, p-bromobenzene sulfonyl chloride[18] and 3,5-dinitrobenzoyl chloride.[19, 20] The use of p-acetaminobenzene sulfonyl chloride has been reported.[21] Carbobenzoxy chloride (benzyl chloroformate) has been used[22] to protect the amino group of an amino acid during the synthesis of polypeptides.

Coordination compounds also have been used as reagents for amino acids. Among these may be mentioned sodium nitroprusside and *Reinecke* salt. *Bergmann* and his co-workers[23] have extended this field, and they report the use of potassium trioxalatochromate as well as the corresponding iron and cobalt compounds for the specific precipitation of glycine. *Bergmann*[24, 25] also reports the use of dioxpyridic and dioxanilic acids, and ammonium rhodanilate, the last of which is selective for proline.

Various sulfonic acids have been used as reagents for amino acids.[26, 27] Quite recently, *Doherty*, *Stein*, and *Bergmann*[28] have reported twenty-six reagents comprising halogen, nitro-, hydroxy-, and hydrocarbon substituted benzene and naphthalene sulfonic acids. Dilituric acid also has been suggested[29] as a reagent for the selective crystallization of the amino acids, as well as for amines and a few alkaloids.

Methods and Procedure.

Reagents of the acid chloride type were not considered feasible for this investigation, because the reaction conditions for such reagents are not adaptable to use on a microscope slide. Such reagents require low temperatures, violent agitation, and usually require a long time for reaction. Bromphenacyl bromide, a reagent frequently used to prepare derivatives of carboxylic acids, was found inapplicable for similar reasons and because of the variability of the results.

Since sulfamic acid has been used[30] to prepare derivatives of amines, an attempt was made to apply it to the amino acids. This reagent was tried with the following amino acids: glycine, alanine, cystine, aspartic acid, glutamic acid, leucine, and tyrosine. A reaction occurred in each instance, but the resulting product was very soluble. The solutions could be evaporated to thick syrups without the formation of any crystals. Precipitates could be produced by the addition of ethyl or methyl alcohol or acetone. Nitrogen analyses of these precipitates would not yield results conformable with the theoretical values.

Tyrosine, which is notably insoluble, dissolved readily in a very small volume of a water solution of an equivalent amount of sulfamic acid. On concentration, this solution yielded a white precipitate, the crystalline appearance and analysis of which indicated it to be the free amino acid. Similar results were obtained with cystine and glutamic acid. These results indicated that the reagent could not be generally applicable, so its behavior with the other amino acids was not investigated.

In order to investigate the possibilities of sodium dioxpyridate, a reagent of this substance was made according to the method of *Werner*[31] and *Bergmann*.[24] With tyrosine, this reagent gave a deep purple-colored precipitate. The intensity of the color indicated that derivatives of this type would not be well suited to identification by microscopic methods. *Reinecke* salt[25] was prepared and was discarded for the same reason.

A series of microscope slide reactions were carried out on the following amino acids: glutamic acid, cystine, tyrosine, tryptophane, leucine, alanine, proline, arginine, and glycine. These acids were used in both acidic and basic solutions. No generally satisfactory results were obtained with any of the following reagents: bromonitrophenol, nitrosalicylic acid, chloric acid, ammonium vanadate, sulfosalicylic acid, sodium uranate, naphthionic acid, bromacetic acid, 1-naphthol-8-amino-5,7-disulfonic acid, 2-naphthol-1-amino-4-sulfonic acid, molybdo-oxalic acid, alizarin sulfonate, or metanil yellow.

In *Redemann* and *Niemann*'s report[29] on the use of dilituric acid, reference is made to the use of 2-nitroindandion-1,3 by *Wanag*[32, 33] for the preparation of derivatives of amines. It was decided to use this organic

compound as a test reagent for the amino acids. The 2-nitroindandione-1,3 was prepared according to the method described by *Wanag*.

Methods of Preparation and Analysis.

In general, the nitroindandion derivatives were prepared by allowing equivalent amounts of 2-nitroindandion-1,3 and the individual amino acid to react. The amino acid was added to a hot saturated aqueous solution of 2-nitroindandions-1,3. The mixture was kept in a boiling water bath for about five minutes to insure a more complete reaction. In some instances, the derivatives were exceedingly soluble, and some difficulty was encountered in bringing about the crystallization. In such instances, recourse to the use of other solvents, such as alcohol, was necessary in order to purify the salts. Derivatives of satisfactory purity were not obtained for tyrosine nor for cystine. After crystallization, the compound was filtered, dried, and recrystallized from water or other solvent several times. The crystals were washed with either acetone or alcohol, depending upon the solubility Several derivatives were prepared which did not form crystals of sufficient size to determine all of the optical properties.

The optical properties were determined by means of a petrographic microscope. The refractive indices were determined by immersing the crystals in liquids of known refringence and comparing the refractive index of any given grain with that of the enveloping liquid by means of the *Becke* test. The temperature at which the indices were taken was 25° C. $\pm$ 1°. The orientations of the crystals so studied were determined by means of the interference figures. Whenever possible, crystals were used in those orientations which gave centered interference figures. The principal refractive indices for these orientations are as follows:

Interference figure	Optical sign	Indices observable
Acute bisectrix	+	α and β
Acute bisectrix	—	β and γ
Obtuse bisectrix	+	β and γ
Obtuse bisectrix	—	α and β
Optic normal	+ or —	α and γ
Optic axis	+ or —	β

In many instances, especially those in which the optic angle was very large, it was difficult to tell whether or not an interference figure was an acute bisectrix, obtuse bisectrix, or optic normal figure. These crystals would give two principal indices at extinction positions 90 degrees apart. The third index was found by crushing the crystals on the microscope slide, in order to obtain more random orientations. In a few instances in which no orientation for an optic axis figure could be found, the beta

index was found on crystals showing an interference figure in which the isogyre passed through the center of the field at the extinction position. In other instances, the crystals consisted of such exceedingly thin plates that no orientation for the third index could be achieved.

Since most of the nitroindandionates had at least one refractive index which was greater than the upper limit of the set of "immersion oils" commonly used, a new set of solutions was made. This was done by saturating methylene iodide with sulfur (roll sulfur must be used; the flowers will not dissolve) and then diluting portions of this solution with varying proportions of methylene iodide. The refractive indices of the solutions so produced were determined by means of the Pulfrich refractometer. In this way, a series of liquids was obtained which covered the range of refractive indices from 1,740 to 1,780 by differences of 0,005 to 0,006.

Liquids with still higher refractive indices had to be prepared in order to determine the indices of some of the compounds. A solution of stannic iodide, arsenic iodide, antimony iodide, and iodoform in methylene iodide[34] was prepared. Instead of a series of liquids being made as before, the individual liquids were prepared as needed.[35] When a compound was being examined, the two solutions—sulfur in methylene iodide and iodides in methylene iodide—were mixed dropwise on a microscope slide to give a mixture which would match the crystals being investigated. When such a match was attained, the same proportions of the two liquids were mixed to produce a large enough amount for use in the Pulfrich refractometer. It was thought advisable to proceed in this fashion because the liquids containing iodides are not stable, but tend to deposit crystals of the iodides on standing.

Unfortunately, several of the solutions so prepared and matched had indices beyond the range of the refractometer. An attempt was made to determine these indices by dilution and use of the formula of *Gladstone* and *Dale*[36], but the values so obtained were inconsistent. Several of the indices, therefore, are reported as greater than 1,87.

Melting points of the derivatives were determined, both in the melting point tube, and on the melting point „block". In neither instance were these determinations of any great value as criteria of purity, because the salts decomposed rather than melted. These decomposition points varied with the period of heating. For this reason, analysis was made the basis for determining the purity of the salts.

The nitrogen analyses were performed by the *Gunning* method[37], modified to include the nitrogen of the nitro group by the use of zinc as the reducing agent in some determinations and by the use of dextrose[38] in others. Concentrated hydrogen peroxide solution was used to hasten the decomposition of some of the compounds according to the method

Table 1. Analytical data.

Nitroindandionate of	Formulae	Melting Point	Nitrogen		Crystal Habit
			Calcd. %	Found %	
d-l-Alanine	$C_{12}H_{12}O_6N_2$	226*	10,00	9,88, 9,84	Parallelogram Plates
d-Arginine[1]	$C_{24}H_{24}O_{10}N_6$	184*	15,10	14,89, 15,03	Small Rosettes
l-Aspartic Acid	$C_{13}H_{12}O_8N_2$	224*	8,63	8,43, 8,46	Yellow Needles and Rods
l-Cysteine	$C_{12}H_{12}O_6N_2S \cdot 1\,H_2O$**	152*	8,96[2]	8,84, 8,73	Rectangular Tablets
d-Glutamic Acid	$C_{14}H_{14}O_8N_2$	214*	8,28	8,20, 8,31	Yellow Rectangular Plates
Glycine	$C_{11}H_{10}O_6N_2$	224*	10,53	10,40, 10,34	Yellow Needles and Rods
l-Histidine[1]	$C_{24}H_{19}O_{10}N_5$	269*	13,03	13,18, 12,93	Tan Rectangular Plates
l-Hydroxyproline	$C_{14}H_{14}O_7N_2$	241*	8,69	8,71, 8,74	Broken Prisms
3,5-Diiodo-*l*-tyrosine	$C_{18}H_{14}O_7N_2I_2$	231*	4,49	4,34, 4,56	Thin Plates and Radiating Needles
d-Isoleucine	$C_{15}H_{18}O_6N_2$	198*	8,69	8,53, 8,60	Yellow, Thin Elongated Needles
l-Leucine	$C_{15}H_{18}O_6N_2$	190*	8,69	8,65, 8,55	Yellow Rectangular Plates
d-Lysine[1]	$C_{24}H_{24}O_{10}N_4 \cdot 6H_2O$***	169*	10,60[2]	10,47, 10,59	Broken Prisms and Tablets
d-l-Methionine	$C_{14}H_{16}O_6N_2S$	193*	8,23	8,22, 8,39	Needles and Thin Plates
β-Phenylalanine	$C_{18}H_{16}O_6N_2$	157*	7,87	7,73, 7,65	Needles
l-Proline	$C_{14}H_{14}O_6N_2$	228*	9,15	9,20, 8,92	Thin Rectangular Plates
d-l-Serine	$C_{12}H_{12}O_7N_2$	170*	9,46	9,38, 9,31	Yellow Rods and Needles
d-l-Trytophane	$C_{20}H_{17}O_6N_3$	232*	10,63	10,72, 10,46	Small Rectangular Plates
d-l-Valine	$C_{14}H_{16}O_6N_2$	217*	9,09	9,12, 9,16	Square and Rectangular Tablets

* Decomposition. ** Water of crystallization calculated 5,46, found 5,55, 5,68. *** Water of crystallization calculated 17,00, found 17,10, 17,30. [1] Dinitroindandionate. [2] Nitrogen on anhydrous basis.

Table 2. Optical-Crystallographic data.

Nitroindandionate of	System	Optical Sign	Elongation	Axial Dispersion	Refractive Indices			Optic Angle	Extinction Angle in Degrees
d-l-Alanine	Monoclinic	—	+	Strong, $v > r$	1,478	1,738	> 1,870	Very Large	40
l-Aspartic Acid	Orthorhombic	+	±	Strong, $r > v$	1,631	1,683	> 1,870	Large	Parallel
l-Cysteine	Orthorhombic	—	+	Strong, $v > r$	1,513	1,748	> 1,870	Large	Parallel
d-Glutamic Acid	Orthorhombic	—	—	Strong, $v > r$	1,449	1,689	> 1,870	Large	Parallel
Glycine	Monoclinic	+	+	Strong, $v > r$	1,636	1,717	> 1,870	Very Large	10
l-Histidine	Monoclinic	—	—	Strong, $v > r$	1,636	1,758	?	Large	15
l-Hydroxyproline	Orthorhombic	+	—	Strong, $v > r$	1,461	1,621	1,802	Large	Parallel
3,5-Diiodo-*l*-tyrosine .	Orthorhombic	+	—	Strong, $v \geqslant r$	1,766	1,786	> 1,870	Very Large	Parallel
d-Isoleucine.....	Orthorhombic	— ?	—		1,450	1,652	1,771	Very Large	Parallel
l-Leucine	Orthorhombic	—	—	Strong, $r > v$	1,449	1,645	1,758	Large	Parallel
d-Lysine	Orthorhombic	+	+	Strong, $r > v$	1,517	1,522	1,781	Very Small	Parallel
d-l-Methionine	Orthorhombic	+ ?	+	Strong, $v > r$	1,622	1,667	?	Large	Parallel
l-Proline	Orthorhombic	+	—	Strong, $r > v$	1,524	1,678	> 1,870	Very Large	Parallel
d-l-Serine.....	Monoclinic	+	+	Strong, $r > v$	1,626	1,705	1,802	Very Large	5
d-l-Valine	Orthorhombic	—	+	Strong, $v > r$	1,467	1,678	⩾ 1,870	Very Large	Parallel

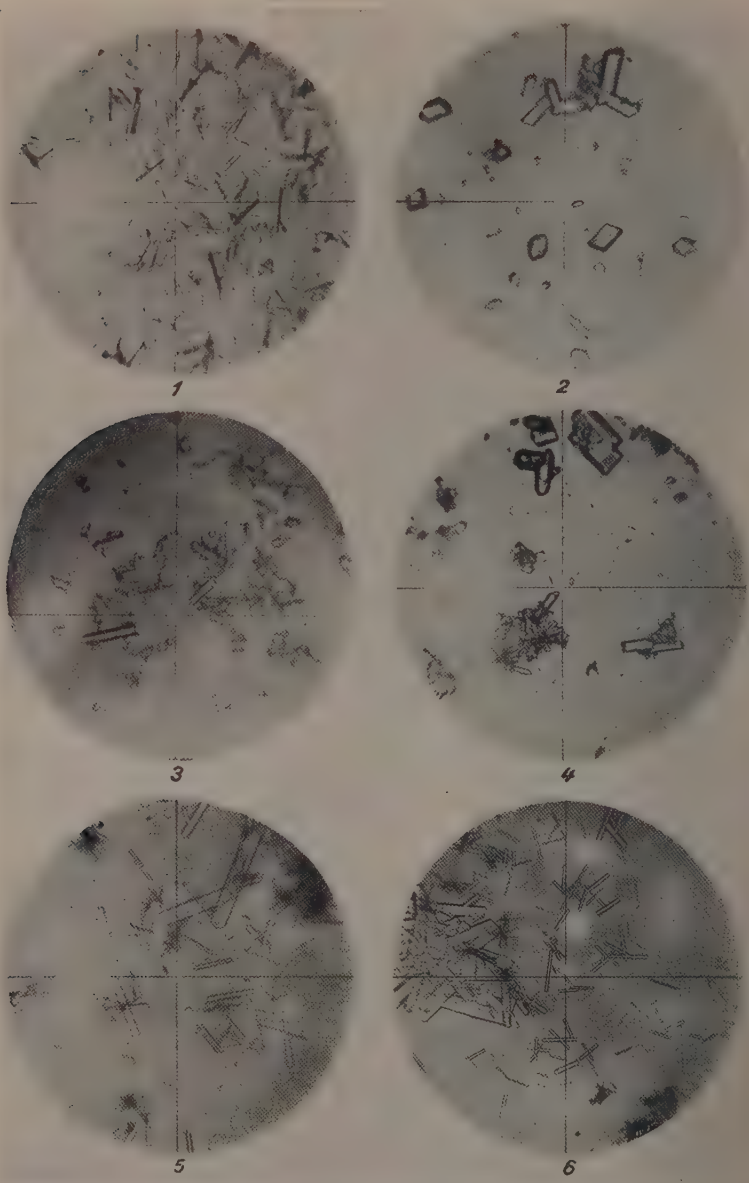
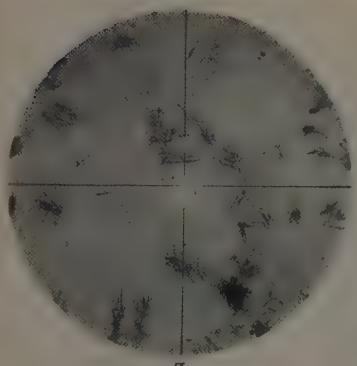
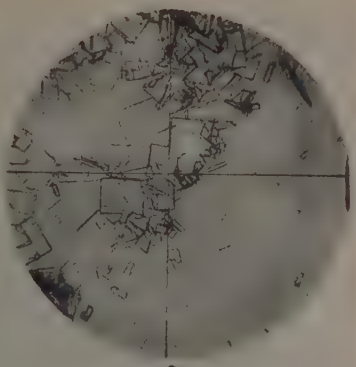
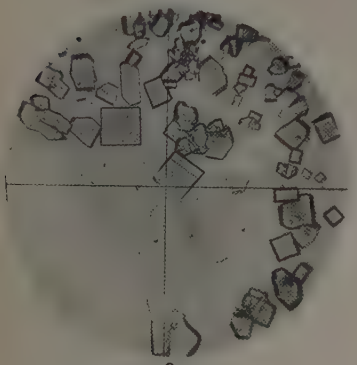
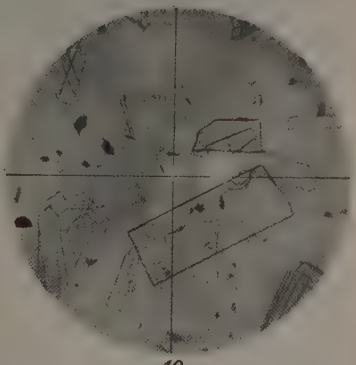


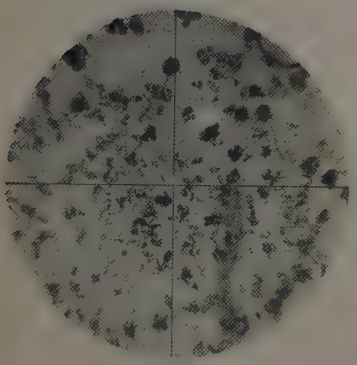
Plate I. (Magnification 100 Diameters.) Photomicrographs of 6 amino acid derivatives of 2-Nitroindandion-1,3. 1. Glycine Nitroindandionate. 2. *d-l*-Alanine Nitroindandionate. 3. *d-l*-Serine Nitroindandionate. 4. *d-l*-Valine Nitroindandionate. 5. *l*-Leucine Nitroindandionate. 6. *d*-Isoleucine Nitroindandionate.


7


8


9


10


11

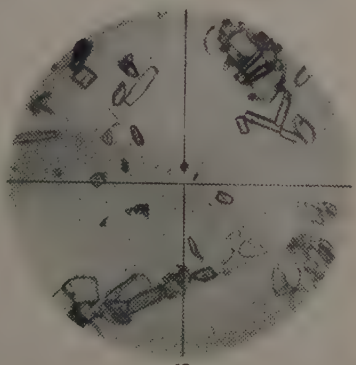
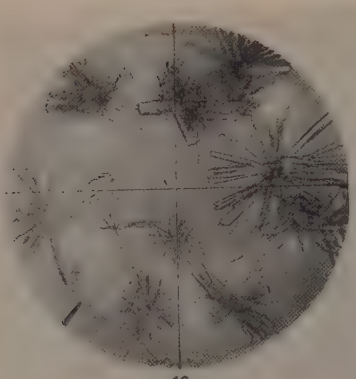
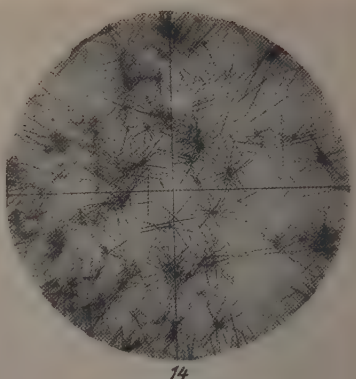
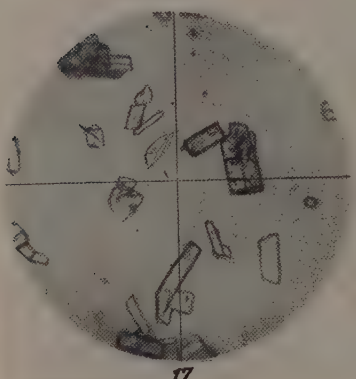

12

Plate II. (Magnification 100 Diameters.) Photomicrographs of 6 amino acid derivatives of 2-Nitro-indandion-1,3. 7. *l*-Aspartic Nitroindandionate. 8. *d*-Glutamic-Nitroindandionate. 9. *d*-Lysine Dinitroindandionate. 10. *l*-Histidine Dinitroindandionate. 11. *d*-Arginine Dinitroindandionate. 12. *l*-Cysteine Nitroindandionate.







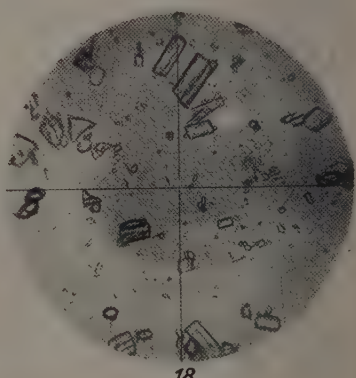


Plate III. (Magnification 100 Diameters.) Photomicrographs of 6 amino acid derivatives of 2-Nitroindandion-1,3. 13. *d-l*-Methionine Nitroindandionate. 14. *β*-Phenylalanine Nitroindandionate. 15. *d-l*-Tryptophane Nitroindandionate. 16. 3,5-Diiodo-*l*-tyrosine Nitroindandionate. 17. *l*-Proline Nitroindandionate. 18. *l*-Hydroxyproline Nitroindandionate.

described by *Poe* and *Dewey*.[39] Selenium was used to hasten the digestions[40] in a number of determinations.

Experimental results.

The analytical data for the nitroindandionates prepared are presented in Table 1. Table 2 lists the optical crystallographic data for these compounds. The optical properties and other data of 2-nitroindandion-1,3 are given in Table 3. The crystals of 2-nitroindandion-1,3 are too highly colored and the dispersion is too great for any accurate study. The photomicrographs of eighteen of the nitroindandionates are presented in Plates I, II and III. Plate IV shows the photomicrograph for 2-nitroindandion-1,3.

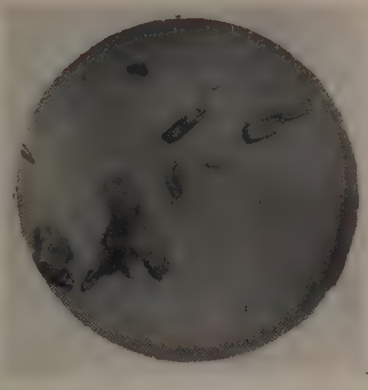


Plate IV. (Magnification 100 Diameters.) Photomicrograph of 2-Nitroindandion-1,3.

A method of identification of amino acids, based on the optical properties of the derivatives, is proposed. This test may be ca ried out on a microscope slide. To a small amount of the unknown, a drop of water and a drop of a saturated solution of nitroindandionate are added. The slide is warmed gently over a small flame. After crystals have formed, the excess water is removed by a microfilter, and the crystals are dried carefully over a small microflame.

The refractive indices are then determined with the polarizing microscope, following the procedure of *Chamot* and *Mason*.[41] Since a definite amino acid is usually being sought, the following procedure is recommend-

Table 3. Characteristic of 2-Nitroindandion-1,3.

Nitrogen per cent: Calculated, 7,33; Found 7,44, 7,49
Melting Point 128° C.
Monoclinic System
Elongation ±
Dispersion, Great
Optically Negative
Optic Angle, Very Large
Extinction Angle, 10°
Refractive Indices

$\alpha = 1{,}678$
$\beta = 1{,}770$ (?)
$\gamma \gg 1{,}870.$

ed: Three portions of the dried material are placed on a microscope slide and treated, respectively, with immersion liquids corresponding to the values given in Table 2. The disappearance of the crystals with the respective liquids at the appropriate orientations indicates the presence of the amino acid. The other optical properties, which are listed in Table 2, may be determined also. If an unknown amino acid is under experimentation, the three indices must be determined. Reference is then made to Table 2 to find the amino acid, having the same refractive indices as the unknown.

Summary.

Derivatives of 18 amino acids with 2-nitroindandion-1,3 have been prepared and analyzed. The optical crystallographic data have been determined for 15 of these new compounds. Photo-micrographs of these nitroindandionates have been made. Several of the compounds prepared did not form crystals of sufficient size to accurately determine all of the optical properties. This condition was especially true with the compounds obtained from arginine, phenylalanine, methionine, and tryptophane.

A method of identification of various amino acids based on the optical-crystallographic properties has been proposed. This identification can be carried out on a microscope slide with very small amounts of material.

The derivatives of nitroindandion are not entirely satisfactory for identification in several instances because of the high values of the indices and because of the solubility of several of the derivatives.

Zusammenfassung.

Die Verbindungen von 18 Aminosäuren mit 2-Nitroindandion-1,3 (2-Nitro-1,3-diketohydrinden) wurden hergestellt und analysiert. An 15 dieser Verbindungen wurden auch kristalloptische Daten ermittelt. Mikrophotographien der Kristalle aller dieser Verbindungen und des Reagens selbst sind angeschlossen.

Zur Identifizierung der Aminosäuren mit Hilfe der kristalloptischen Konstanten der Verbindungen mit dem Reagens wird eine kleine Menge der Aminosäure mit einer gesättigten Lösung des Nitroindandions behandelt. Die Mischung wird auf dem Objektträger erwärmt und die sich bildenden Kristalle werden trocken gesaugt und schließlich über einer Mikroflamme sorgfältig getrocknet. Die Brechungsindizes werden dann unter dem Polarisationsmikroskop bestimmt.

Die folgenden Aminosäuren erlauben eine eindeutige Bestimmung der optischen Eigenschaften und können mit Sicherheit erkannt werden:

d-l-Alanin, *l*-Asparaginsäure, *l*-Cystein, *d*-Glutaminsäure, Glycin, *l*-Histidine, *l*-Oxyprolin, 3,5-Dijod-*l*-tyrosin, *d*-Isoleucin, *d*-Lysin, *l*-Prolin, *d-l*-Serin und *d-l*-Valin.

References.

[1] *C. F. Poe* and *J. E. Sellers*, J. Amer. Chem. Soc. **54**, 249 (1932).

[2] *C. F. Poe* and *J. E. Sellers*, Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. **4**, 69 (1932).

[3] *C. F. Poe* and *C. A. Swisher*, J. Amer. Chem. Soc. **57**, 748 (1935).

[4] *M. E. Hultquist* and *C. F. Poe*, Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. **7**, 398 (1935).

[5] *M. E. Hultquist*, *C. F. Poe* and *N. F. Witt*, Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. **14**, 219 (1942).

[6] *M. E. Hultquist*, *C. F. Poe* and *N. F. Witt*, J. Amer. Chem. Soc. **67**, 688 (1945).

[7] *R. N. Castle* and *N. F. Witt*, J. Amer. Chem. Soc. **68**, 64 (1946).

[8] *Joseph D. Surmatis* and *M. L. Willard*, Mikrochem. **21**, 167 (1937).

[9] *Burlingame Bullock* and *Paul L. Kirk*, Mikrochem. **18**, 129 (1935).

[10] *G. L. Keenan*, J. Biol. Chemistry, **62**, 163 (1925).

[11] *G. L. Keenan*, J. Biol. Chemistry **83**, 137 (1929).

[12] *B. L. Crosby* and *Paul L. Kirk*, Mikrochem. **18**, 137 (1935).

[13] *B. Cunningham*, *M. MacIntyre* and *Paul L. Kirk*, Mikrochem. **21**, 245 (1937).

[14] *R. Dunn*, *K. Inouye* and *Paul L. Kirk*, Mikrochem. **27**, 154 (1939).

[15] *C. L. Schmidt*, The Chemistry of the Amino Acids and Proteins, Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1940.

[16] *M. A. B. Brazier*, Biochemic. J. **24**, 1188 (1930).

[17] *H. H. Mitchell* and *T. S. Hamilton*, The Biochemistry of the Amino Acids, The Chemical Catalogue Co., New York, 1929.

[18] *E. W. McChesney* and *W. K. Swann*, J. Amer. Chem. Soc. **59**, 1116 (1937).

[19] *B. C. Saunders*, Biochemic. J. **28**, 580 (1934).

[20] *B. C. Saunders*, J. Chem. Soc., part II, p. 1397 (1938).

[21] *F. P. Mazza* and *C. Migliardi*, Atti R. Acad. naz. Lincei, Rend. **28**, 152 (1938). See Chem. Abstr. **33**, 9300 (1939).

[22] *E. Wertheim*, Textbook of Organic Chemistry, Blakiston Company, Philadelphia, 1939.

[23] *Max Bergmann* and *S. W. Fox*, J. Biol. Chemistry **109**, 317 (1935).

[24] *Max Bergmann*, J. Biol. Chemistry **122**, 569 (1938).

[25] *Max Bergmann*, J. Biol. Chemistry **110**, 471 (1935).

[26] *M. E. Fitzgerald*, Trans. Roy. Soc. Canada **31**, 153 (1938). See Chem. Abstr. **32**, 3758 (1938).

[27] *Max Bergmann* and *W. H. Stein*, J. Biol. Chemistry **129**, 609 (1939).

[28] *D. G. Doherty*, *W. H. Stein* and *Max Bergmann*, J. Biol. Chemistry **135**, 487 (1940).

[29] *C. E. Redemann* and *Carl Niemann*, J. Amer. Chem. Soc. **62**, 590 (1940).

[30] *W. E. Gordon* and *M. E. Cupery*, Ind. Engng. Chem. **31**, 1237 (1939).

[31] *A. Werner*, Liebigs Ann. **406**, 261 (1914).

[32] *Gustav Wanag*, Ber. dtsch. chem. Ges. **69**, 1066 (1936).

[33] *Gustav Wanag* and *A. Lode*, Ber. dtsch. chem. Ges. **70**, 547 (1937).

[34] *E. A. Larsen* and *Harry Berman*, The Microscopic Determination of the Nonpaque Minerals. U. S. Dept. of Interior, Geol. Survey Bull. **1934**, 848.

[35] *E. S. Davies* and *N. H. Hartshorne*, J. Chem. Soc., part II, p. 1830 (1934).

[36] *A. Findlay*, Practical Physical Chemistry. Longmans, Green & Co., New York, 1923.

[37] Official and Tentative Methods of Analysis, Assn. Official Agric. Chem. 5th ed., Washington, D. C. 1940.

[38] *A. Elek* and *H. Sabotka*, J. Amer. Chem. Soc. **48**, 501 (1926).

[39] *C. F. Poe* and *B. T. Dewey*, J. Amer. Pharmac. Assoc. **25**, 419 (1936).

[40] *C. F. Poe* and *Margaret Nalder*, Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. **7**, 189 (1935).

[41] *E. M. Chamot* and *C. W. Mason*, Handbook of Chemical Microscopy, 2nd ed., Vol. 1, John Wiley and Sons, New York, 1938.

Zur Polymorphie organischer Verbindungen.

Von

A. Kofler, Innsbruck.

(Eingelangt am 30. März 1948.)

Die Anwendung mikroskopischer Methoden zur Kennzeichnung organischer Stoffe[1] bringt es mit sich, daß immer mehr Polymorphiefälle bei den verschiedensten Stoffgruppen organischer Verbindungen aufgefunden werden. Im folgenden handelt es sich um Polymorphieerscheinungen, die bei der gewöhnlichen mikroskopischen Arbeitsweise auftreten, d. i. bei normalem Druck und in einem Temperaturintervall von etwa 0° bis zum Schmelzpunkt der betreffenden Substanz. Die Zahl der Modifikationen ist daher nicht als erschöpfend zu betrachten, da bei Anwendung besonderer Erstarrungsmaßnahmen, die von Einfluß auf die Keimbildung sind,[2] ferner bei der Untersuchung von Präparaten verschiedener Herkunft, sowie durch Impfwirkungen noch weitere Modifikationen der in Frage kommenden Stoffe in Erscheinung treten können.

Was die Art der beobachteten Polymorphie anlangt, so ist auch bei den hier neu beschriebenen Fällen Monotropie — wie sonst im allgemeinen — häufiger als Enantiotropie.[3] Es konnte nur bei zwei Stoffen, d. i. bei *2,4,6-Tribromphenol* und bei *Malonamid Enantiotropie* nachgewiesen werden.

Die Herstellung instabiler Modifikationen gelingt auf verschiedene Weise. Die einfachste Art ist das *Kristallisieren von Schmelzen* in mehr oder weniger unterkühltem Zustand, was beim mikroskopischen Arbeiten einfach dadurch erreicht wird, daß ein mikroskopisches Präparat, je nach dem gewünschten Unterkühlungsgrad, auf eine Metallplatte bei Raumtemperatur oder bei Kühlung durch eine Kältemischung gelegt wird. Der Unterkühlungsgrad ist häufig von wesentlicher Bedeutung für die Ausbildung bestimmter Modifikationen. Beim Erstarren aus der Schmelze entstehen bei polymorphen Stoffen meist mehrere Modifikationen nebeneinander, die sich oft schon durch den Habitus und insbesondere durch die Kristallisationsgeschwindigkeit unterscheiden lassen. Bei stärkerer Unterkühlung ist in der Regel die Ausbildung von Sphärolithen gegenüber derbstrahligen Aggregaten oder Einzelkristallen bevorzugt; jedoch hängt der Habitus in erster Linie von den spezifischen Eigenschaften der betreffenden Modifikation ab. Man kann nicht selten die Beobachtung machen, daß Fabrikspräparate verschie-

dener Herkunft in ihrer Neigung zur Ausbildung instabiler Modifikationen sich sehr verschieden verhalten, so daß ein bestimmtes Präparat die einen, ein anderes Präparat die anderen Modifikationen bevorzugt ausbildet, z. B. Pikrylchlorid.[4] Es ist jeweils schwierig zu erkennen, ob für dieses Verhalten spezifische, d. i. chemisch verwandte Beimengungen oder unspezifische Verunreinigungen verantwortlich zu machen sind. Von welcher Bedeutung eine geringfügige Beimengung eines chemisch verwandten Stoffes für die Ausbildung einer instabilen Modifikation sein kann, ist aus dem Schmelzdiagramm von Pikrinsäure : s-Trinitrobenzol,[5] und zwar in bezug auf die Mod. II (110°) zu ersehen; diese Form, die bei reinem s-Trinitrobenzol immer fast schlagartig aus der primär gebildeten Form III (109°) entsteht, tritt schon bei 1% Pikrinsäuregehalt aus thermodynamischen Gründen nicht mehr in Erscheinung.

Eine zweite Art zur Erzeugung instabiler Modifikationen ist die bei normalem Druck und bei einer in bezug auf den Schmelzpunkt der betreffenden Substanz nicht zu hohen Temperatur durchgeführte *Sublimation*,[1] die meist zur Ausbildung von Einzelkristallen oder Kristalldrusen führt. Die isolierte Lage der durch Sublimation gebildeten Kristalle gestattet häufig noch Schmelzpunktbestimmungen, die an Kristallisaten aus der Schmelze wegen zu großer Umwandlungsgeschwindigkeit nicht durchgeführt werden können.

Eine dritte Möglichkeit besteht in der durch einen verwandten Stoff auf die Schmelze einer bestimmten Substanz ausgeführten *Impfwirkung*. So gelingt es z. B. in einem Kontaktpräparat[6, 1] s-Trinitrobenzol in einer Schmelze von Pikrinsäure weiter wachsen zu lassen, wobei Pikrinsäure eine sehr instabile Modifikation ausbildet, die bei 75° schmilzt.[4] Auch Styphninsäure wächst in einer Pikrinsäureschmelze isomorph weiter, bildet aber dabei eine andere, bei 101° schmelzende Form der Pikrinsäure.[7] Beide instabilen Modifikationen der Pikrinsäure (II 101°, III 75°) konnten bisher auf keinem anderen Kristallisationswege erhalten werden. Die Ursache der Impfwirkung ist in beiden Fällen die hohe kristallchemische Verwandtschaft der betreffenden Formen, die in lückenloser Mischkristallbildung zum Ausdruck kommt, so daß ein Stoff in der Schmelze des anderen *isomorph*, d. i. in *derselben Phase* weiterzuwachsen vermag. Impfwirkungen treten aber auch ein bei geringerem als zu lückenloser Mischbarkeit notwendigem, kristallstrukturellem Ähnlichkeitsgrad. In diesem Fall wird durch die impfenden Kristalle in der Schmelze des zweiten Stoffes eine *neue Phase* induziert. Die Differenzierung des isomorphen Fortwachsens einerseits und der Keiminduktion anderseits ist meist schon im Kontaktpräparat[6] auf Grund des Phasencharakters möglich.

Untersuchungen in größerem Maßstab über Impfwirkungen wurden von *Weygand*[8] ausgeführt, wobei jedoch den thermodynamischen Beziehungen der Kristallisate keine Beachtung geschenkt wurde, so daß über den jeweiligen Verwandtschaftsgrad keinerlei Aussagen gemacht werden können.

In seltenen Fällen entsteht eine instabile Modifikation nur aus einem bestimmten Lösungsmittel. So kristallisiert z. B. p-Methylchalkon in der 99°-Form nur aus Methylalkohol und vermag aus der Schmelze nicht zu wachsen.[9]

Zur Charakterisierung der instabilen Modifikationen wird im Folgenden in erster Linie der Schmelzpunkt angeführt, der häufig unter Zuhilfenahme besonderer Maßnahmen bestimmt werden mußte. Ferner werden Angaben über das kristallmorphologische Verhalten im allgemeinen sowie

über die jeweiligen kristalloptischen Eigenschaften gemacht, soweit Untersuchungen in dieser Richtung möglich waren. Auch das relative Verhalten der Kristallisationsgeschwindigkeit wird in einigen Fällen zur Differenzierung herangezogen.

Die Bestimmung des Schmelzpunktes instabiler Formen hängt mit der Haltbarkeit der betreffenden Modifikationen zusammen, die ihrerseits wieder mit der Keimbildungsgeschwindigkeit stabilerer Formen und ihrer Umwandlungsgeschwindigkeit (U. G.) im Zusammenhang steht. In vielen Fällen kann der Schmelzpunkt einer instabilen Modifikation im mikroskopischen Präparat deshalb ohne weiteres bestimmt werden, weil die stabile Form zunächst ausbleibt, die sonst rasche Umwandlung bewirken würde. In anderen Fällen kann der Schmelzpunkt der instabilen Form trotz Anwesenheit der stabilen ohne Schwierigkeit bestimmt werden, weil die U. G. gering ist, und daher bis zum Erreichen des Schmelzpunktes die Umwandlung noch nicht in allen Teilen des Präparates vollendet ist, z. B. bei Methylharnstoff, Novatophan.

In der Mehrzahl der Fälle müssen aber zur Ermittlung des Schmelzpunktes, sofern sie nicht an Sublimaten gelingt, verschiedene Kunstgriffe angewendet werden, um zum Ziele zu gelangen.[10] Es handelt sich im wesentlichen um folgende Möglichkeiten: 1. Übertragen des erst im Erstarren begriffenen Präparates auf den vorgewärmten Heiztisch, solange die instabilen Herde noch von der Schmelze umgeben sind. 2. Abheben des Deckglases von einem als instabile Modifikation erstarrten Präparat und Schmelzpunktbestimmung an Fragmenten, die aus dem allgemeinen Verband abgetrennt sind. 3. Aufsuchen eines kleinen isoliert liegenden Schmelztropfens, der als instabile Form erstarrt ist, da an solchen häufig die Keimbildung stabilerer Formen ausbleibt. Durch Anwendung der genannten Untersuchungsmöglichkeiten ist es in allen unten beschriebenen Fällen mit Ausnahme eines einzigen Falles gelungen, die Schmelzpunkte der instabilen Formen im Gleichgewicht[1] festzustellen. Bei der Ausnahme (Acetessigsäureanilid IV) handelt es sich um eine Form, die sofort nach ihrem Entstehen von vielen Keimen aus die Form II selbst induziert, so daß erstere nicht erfaßt werden kann. In solchen Fällen ist es manchmal möglich, durch eine chemisch verwandte Substanz eine Stabilisierung hervorzurufen, die die Schmelzpunktbestimmung im Zweistoffsystem gestattet, wodurch sich ein Hinweis auf die Lage des Schmelzpunktes ergibt.[10]

Die instabilen Modifikationen eines Stoffes zeigen untereinander jeweils verschiedene Beziehungen, die sich darin äußern, daß eine bestimmte instabile Form von einer weniger instabilen rasch umgewandelt wird, während die weniger instabilen Formen untereinander geringe Umwandlungstendenz zeigen. Nicht selten liegen die Schmelzpunkte solcher

Formen nahe beisammen. Es ist anzunehmen, daß diese Eigenschaft zum Teil mit der Ausbildung von „Kristallgruppen" bzw. „Formengruppen" zusammenhängt.[11] Solche Formenpaare sind z. B. bei Benzotriazol I und II, III und IV, bei Acetyldiphenylamin II und III.

Unter den in der folgenden Tabelle aufgezählten polymorphen Stoffen sind auch einige Stoffe genannt, deren polymorphes Verhalten im Schrifttum bereits bekannt war, jedoch ohne Angabe des Schmelzpunktes.

Tabelle.

Fluorenon	I 83°,	II 72°, III 54°, IV 52°.
Novatophan	I 59°,	II 51,5°.
Acetanilid	I 115°,	II 100°.
Acetessigsäureanilid	I 84°,	II 72°, III 61°, IV —.
p-Amidoacetanilid	I 163°,	II 141°.
Acetyldiphenylamin	I 103°,	II 87°, III 86°.
Malonamid	I 170° $\rightleftarrows$	II 166° (u = 106°), III 163°.
Dehydracetsäure	I 112°,	II 111°.
Diphensäure	I 228°,	II 224°, III 212°.
Benzotriazol	I 99°,	II 97°, III 85°, IV 83°, V 68°.
ω-Tetrabrom-o-xylol	I 116°,	II 103°, III 98°.
Succinimid	I 126°,	II 124°.
1, 2, 6-Dinitrophenol	I 63,5,	II 54°.
2, 4, 6-Tribromphenol	I 94° $\rightleftarrows$	II 92°, (u = 84°).
Methylharnstoff	I 103°,	II 101°.
p, p'-Dichlor-diphenyl-trichloräthan	I 109°,	II 95°.
p-Acetotoluid	I 151°,	II 145°.

Experimenteller Teil.

1. Fluorenon I 83°, II 72°, III 54°, IV 52°. Aus der Schmelze entsteht in der Regel primär nur II in derbstrahligen Aggregaten. Meist treten bald Herde von I auf, die besonders beim Erwärmen rasche Umwandlung bewirken. Den Schmelzpunkt von II kann man im kleinen Tropfen oder aber im großen Kristallfilm dann bestimmen, wenn man ein eben als II erstarrtes Präparat sofort auf den warmen Heiztisch zwischen 60 und 70° auflegt. Die Modifikationen III und IV sind sehr unstabil und werden sofort in II umgewandelt; mit einiger Mühe gelingt die Schmelzpunktbestimmung im kleinen Tropfen.

Nach dem Schrifttum kristallisiert die stabile Form rhombisch bipyramidal[12]; Achsenebene (A. E.) ist 001, I. Mittellinie (M.) Achse a, optisch positiv, Achsenwinkel (A. W.) groß. Auf Grund dieser Angaben sind die aus dem Gleichgewicht[1] entstehenden derben Prismen zum Teil auf 100 mit dem Austritt der I. M. γ oder auf 010 orientiert, zum Teil auch auf Prismenflächen mit dem Austritt einer optischen Achse. Die instabilen Kristalle aus dem Gleichgewicht sind zuerst tonnenförmig und wachsen dann zu großen Platten mit grau bis bräunlichen Interferenzfarben heran; sie zeigen den Austritt einer optischen Achse mit deutlicher Dispersion ($\varrho > v$) und mittelgroßem A. W. Die A. E. liegt senkrecht zu Spaltrissen, die den geraden Kanten der ursprünglichen Tonnen entsprechen. Neben den Platten treten schief auslöschende Leisten auf, so daß *monokline Symmetrie* wahrscheinlich ist.

2. Novatophan I 59°, II 51,5°. Die Schmelze erstarrt bei Raumtemperatur (R. T.) schwer, meist erst nach längerem Liegen. Wenn man durch Kratzen des Deckglasrandes und Verschieben des Deckglases die Kristallisation anregt, entstehen in der Regel beide Modifikationen nebeneinander. I bildet rautenförmige oder rechteckige, sehr langsam wachsende Einzelkristalle, II feinstrahlige, trübe Sphärolithe, an denen man auch in Gegenwart von I den Schmelzpunkt leicht bestimmen kann. Die Rauten von I löschen symmetrisch aus und zeigen ein fast bisymmetrisches Achsenbild, nämlich den Austritt der I. M. γ bei großem A. W. Daneben treten schief auslöschende Prismen auf. Manche Rauten zeigen Felderteilung mit einer Auslöschungsdifferenz von 2°. Wahrscheinlich liegt *monokline Symmetrie* vor. II bildet aus dem Gleichgewicht dünne, zugespitzte, gerade auslöschende Nadeln, die keine näheren Untersuchungen gestatten.

3. Acetanilid I 115°, II 100°. Die Dimorphie des Acetanilids ist lange bekannt *(Lehmann*[3, 13], *Müller*[14]*)*, jedoch wurde bisher kein Schmelzpunkt für die instabile Form angegeben.

Acetanilid kristallisiert spontan aus der Schmelze in derbstrahligen Aggregaten von II, die aber rasch von zahlreichen Keimen aus in I umgewandelt werden. Der Schmelzpunkt von II kann im kleinen Tropfen oder im Sublimat bestimmt werden[1].

Die stabile Form kristallisiert *rhombisch bipyramidal*[15]; A. E. 010, I. M. Achse c, positiv. Darnach liegen die Stengel im mikroskopischen Präparat auf 001 oder 100 mit Längenwachstum nach der Achse b. Für die instabile Form nahm *Lehmann* monokline Symmetrie an. Im mikroskopischen Präparat bildet II schief oder gerade auslöschende Prismen, welch letztere ein bisymmetrisches Achsenbild mit großem A. W. zeigen, opt. negativ.

4. Acetessigsäureanilid I 83°, II 72°, III 61°, IV —. Aus der Schmelze entstehen oft alle vier Formen nebeneinander. I und IV bilden in der Regel große Platten mit lebhaften Interferenzfarben. IV wandelt sich aber sofort von vielen Zentren aus in kleine Strahlenbüschel von II um, so daß es unmöglich ist, den Schmelzpunkt zu bestimmen. Modifikation III bildet feinstrahlige Sphärolithe mit meist ganz niedrigen Interferenzfarben (grau bis gelb I. Ordnung). Die Umwandlung von III in I geht vor allem in der Wärme rasch vor sich. Im kleinen Tropfen kann man den Schmelzpunkt von III ermitteln. Mod. II tritt seltener spontan auf und ist an der leuchtend blauen Interferenzfarbe zu erkennen. Zuverlässig ist II dann zu erhalten, wenn man ein Präparat mit eben aus dem Gleichgewicht kristallisierender Form III auf eine kalte Platte legt, wobei II durch III induziert wird.

Die stengeligen und plattenförmigen Kristalle der stabilen Modifikation löschen gerade aus; auf den Platten erhält man ein bisymmetrisches Achsenbild mit dem Austritt der I. M. bei großem A. W. und längs verlaufender A. E. Allem Anschein nach handelt es sich um *rhombische* Kristalle. Die instabilen Kristalle (II und III) besitzen wahrscheinlich *monokline* Symmetrie.

5. p-Aminoacetanilid I 163°, II 141°. Modifikation II wächst aus der Schmelze als alleiniges Kristallisat bei Unterkühlung unter 100° in verfilzt-strahligen Sphärolithen. Beim Wachsen der Kristalle über 100° werden die Strahlen breiter und haben dann ganz niedrige Interferenzfarben (grau und gelb I. Ordnung). Da die stabile Form oft ganz ausbleibt, kann man ohne weiteres den Schmelzpunkt von II bestimmen. Aus dem Gleichgewicht bildet II graue Rechtecke mit zahlreichen parallel zu einer Kante verlaufenden Spaltrissen; daneben treten noch zwei Scharen sich schiefwinkelig über-

kreuzender Spaltrisse in symmetrischer Anordnung auf. Konoskopisch zeigt sich der Austritt der I. M. bei sehr kleinem A. W. (positiv). Da senkrecht zu den Platten orientierte Kristalle ebenfalls gerade Auslöschung besitzen, ist *rhombische Symmetrie* anzunehmen. Die Kristalle von I sind im erstarrten Präparat sofort an ihren höheren Interferenzfarben (rot und grün höherer Ordnung) zu erkennen; sie wandeln II rasch um. Aus dem Gleichgewicht entstehen rechteckig begrenzte Prismen und vereinzelte senkrecht dazu orientierte sechseckige Körner. Beide zeigen gerade Auslöschung und bisymmetrische Achsenbilder. Vermutlich liegt *rhombische Symmetrie* vor, wobei die Prismen parallel 100 und die Sechsecke parallel 001 orientiert sind. Die A. E. liegt parallel zu 010, die I. M. α bei großem A. W. entspricht der c-Achse.

6. Acetyldiphenylamin (Phenylacetanilid) I 103°, II 87°, III 86°. Die Schmelze erstarrt träg unter Ausbildung aller drei Formen, die sich morphologisch leicht differenzieren lassen. III bildet Sphärolithe mit feinen, zum Teil verfilzten Strahlen und grau bis gelben Interferenzfarben. II kristallisiert in derben, sphärolithisch wachsenden Aggregaten mit lebhaften Interferenzfarben. II zeigt gegenüber III nur geringe Umwandlungstendenz, daher können in Abwesenheit von I beide Schmelzpunkte im gleichen Präparat hintereinander bestimmt werden. I bildet glattstrahlige, vorwiegend grau bis gelbe Aggregate, die zum Teil sphärolitisch wachsen, zum Teil aber bizarre Wachstumsformen zeigen, die durch das „Blasenphänomen"[16] verursacht werden. Unter dem „Blasenphänomen" versteht man eine durch Gasblasen in der Schmelze verursachte Kristallisationssteigerung. Sie zeigt sich in der Weise, daß hinter einer Gasblase die Kristalle rascher wachsen, so daß die Kristallisationsfronten in Zacken ausgezogen werden, an deren Spitzen je eine Gasblase hängt bzw. vorgeschoben wird. Jeder Bewegung der Gasblase folgt die Kristallisation, wodurch gekrümmte, gewundene und gedrehte Aggregate zustande kommen.

Die stabile Form kristallisiert *rhombisch bipyramidal*, A. E. 001, I. M. Achse a, positiv, A. W. mittelgroß[17]. Aus dem Gleichgewicht erhält man gerade auslöschende Prismen, die auf verschiedenen Flächen der Zone der c-Achse liegen. Da die A. E. quer liegt, ist konoskopisch entweder eine Mittellinie oder eine optische Achse zu erkennen. Bei II ist *rhombische*, bei III *monokline Symmetrie* wahrscheinlich.

7. Malonamid I 170° $\underset{\rightarrow}{\overset{\rightarrow}{\rightleftarrows}}$, II 166° (u = 106°), III 163°. Im Schrifttum[18, 19] wurde Malonamid zuerst als monotrop dimorph beschrieben. *Wallérant*[20] beobachtete bei Kristallisationsversuchen aus der Schmelze noch eine dritte Modifikation (ohne Angabe des Schmelzpunktes). Bei den eigenen Untersuchungen wurden drei Modifikationen festgestellt, von denen I und II sich *enantiotrop* verhalten mit einem Umwandlungspunkt bei 106°. Infolge der Enantiotropie kommt nicht der von *Keith*[18] bei R. T. als stabil bezeichneten *monoklinen* Form der Schmelzpunkt von 170° zu[21], sondern der „metastabilen" *tetragonalen Modifikation*, die daher als I zu bezeichnen ist. Die monokline Form II schmilzt bei 166°, falls sie sich nicht vorher, was meist nur teilweise und in der Regel erst kurz vor dem Schmelzen geschieht, in I umgewandelt hat. Im Pulverpräparat kommt in der Regel der Schmelzpunkt der bei Raumtemperatur beständigen monoklinen Form II zur Geltung[1].

Die Umwandlung zwischen I und II erfolgt in der festen Phase in den in Frage kommenden Temperaturbereichen so langsam, daß der Umwandlungspunkt nicht in der üblichen Weise festgestellt werden kann. Er läßt sich aber mit Hilfe von Wasser leicht ermitteln, wenn man einen Tropfen an den Rand des intakten, aus I bestehenden Präparates bringt. Beim

Verdunsten kristallisiert die gelöste Substanz dann in der monoklinen Form aus, die während ihres Wachsens die tetragonale Modifikation zur Lösung bringt. Beim Erwärmen läßt sich bei 106° die Umkehr der Löslichkeit feststellen. Aus der Schmelze kristallisiert spontan eine dritte Form, die sich aber rasch in I oder seltener in II umwandelt. Im kleinen Tropfen kann der Schmelzpunkt von III (163°) leicht bestimmt werden.

Kristalloptisch verhält sich die monokline Form II positiv, A. E. parallel 010, II. M. nur wenig von der Achse c abweichend, Dispersion $\varrho > v$[18]. Im mikroskopischen Präparat erhält man stengelige Kristalle nach der c-Achse. Mod. III bildet aus dem Gleichgewicht derbe Prismen mit Austritt der I. M. α und Dispersion $\varrho < v$, A. E. quer; wahrscheinlich auch *monoklin.*

8. Dehydracetsäure I 112°, II 111°. Aus der Schmelze kristallisiert spontan fast immer II in derben Kristallen mit Zwillingslamellierung; beim Erwärmen treten zahlreiche Herde von I auf, die rasche Umwandlung bewirken. Der Schmelzpunkt kann nur mit Mühe an Fragmenten von II bestimmt werden. Bei Auflegen eines eben als II erstarrten Präparates bei etwa 115° sieht man neben den neu auftretenden Kristallen von I die ursprünglichen Kristalle II unmittelbar vor I herausschmelzen. Mod. I bildet gerade auslöschende Stengel oder symmetrisch auslöschende Rauten mit dem Austritt der I. M. α bei großem A. W. Wahrscheinlich liegt *rhombische* Symmetrie vor.

9. Diphensäure I 228°, II 224°, III 212°. Zur Erzeugung aller drei Modifikationen geht man am besten so vor, daß man das zuerst auf Eis abgekühlte geschmolzene Präparat bei etwa 170 bis 180° auf den Heiztisch auflegt. III bildet dann derbplattige Aggregate, die während des Wachsens häufig rechtwinkelig skelettiert erscheinen. II kristallisiert in feinstrahligen oder gefiederten Aggregaten, I in derben Rosetten, die in der Regel aus 8 Sektoren bestehen. Während des Erwärmens wird III immer von I vollständig umgewandelt, während II an einzelnen Stellen bis zum Schmelzpunkt (224°) erhalten bleiben kann. Der Schmelzpunkt von III wird am besten an isolierten Kristallbruchstücken nach Ablösen des Deckglases vom Objektträger bestimmt. Bei Diphensäure wurden monoklin-prismatische Symmetrieverhältnisse festgestellt[22] mit vollkommener Spaltbarkeit nach 001; A. E. ist 010, A. W. sehr groß. Mod. II gehört vermutlich ebenfalls zum *monoklinen* System.

10. Benzotriazol I 99°, II 97°, III 85°, IV 83°, V 68°. Aus der Schmelze kristallisieren bei Raumtemperatur III, IV und V, die morphologisch gut voneinander zu unterscheiden sind. V bildet derbe, sehr langsam wachsende Einzelkristalle in Körnern oder Prismen, die bei Berührung mit III oder IV bald umgewandelt werden. IV wächst in glattstrahligen Sphärolithen besonders gut in eisgekühlten Schmelzen; bei Übertragen eines eben als IV kristallisierenden Präparates auf den leicht erwärmten Heiztisch wird von IV sofort III induziert. III bildet verfilztstrahlige Sphärolithe oder Aggregate aus gefiederten Stengeln. Die Schmelzpunkte werden am besten im kleinen Tropfen bestimmt, da beim Erwärmen in größeren Kristallisaten immer Herde von II oder I auftreten, die rasche Umwandlung zur Folge haben. II erscheint in Strahlenbüscheln mit gebogenen, federbuschartig angeordneten, bandförmigen Kristallen, I bildet Sterne mit geraden Strahlen. II zeigt geringe Umwandlungstendenz in I, so daß ihr Schmelzpunkt auch neben der stabilen bestimmt werden kann. Manchmal bleibt I überhaupt aus.

Kristalloptisch zeigen die Stengel von I, II und III gerade oder schiefe Auslöschung. I und II zeigen an den gerade auslöschenden Stengeln eine optische Achse ganz am Rande des Gesichtsfeldes, III den Austritt der I. M. γ

bei fast bisymmetrischem Achsenbild; für diese drei Modifikationen ist *monokline* Symmetrie wahrscheinlich. Die Radiärstrahlen von IV löschen gerade aus. Andere Bestimmungen sind nicht möglich. V tritt in schiefauslöschenden Körnern auf mit vermutlich trikliner Symmetrie. Sie sind optisch negativ bei mittelgroßem A. W.

11. ω-Tetrabrom-o-xylol I 116°, II 103°, III 98°. Bei spontaner Kristallisation der Schmelze entstehen meist II und III, seltener auch I. Die derbstrahligen Aggregate oder Sphärolithe der drei Formen sind nicht sehr gut zu unterscheiden. III bildet garbenförmige oder sphärolithische Aggregate mit grauen und gelben Interferenzfarben, II feinstrahlige Büschel, die häufig als Sektoren in die Aggregate von III eingebettet sind, I derbstrahlige Aggregate. Beim Erwärmen tritt in größeren Kristallfilmen so gut wie immer Umwandlung in die stabile Form ein. Im kleinen Tropfen gelingt es jedoch leicht, die Schmelzpunkte von II und III zu bestimmen, auch wenn sie, was häufig vorkommt, nebeneinander liegen, da die Umwandlungstendenz gering ist. Alle drei Formen zeigen fast nur schiefauslöschende Kristalle. Bei der Sublimation entstehen bei Temperaturen bis 100° fast immer nur III und II, die leicht an ihrem Habitus zu unterscheiden sind. III bildet schöne Körner, die in der Regel rhomboidischen Umriß haben, wobei an allen vier Kanten abfallende Flächen liegen. Sie löschen schief aus, ebenso die senkrecht dazu gelagerten Kristalle, so daß *trikline* Symmetrieverhältnisse wahrscheinlich sind. Mod. II bildet meist gerade auslöschende Stengel, die *monokline* Symmetrie besitzen. I ist wieder körnig und zeigt große Ähnlichkeit mit Form III, jedoch lassen sich auch symmetrisch auslöschende Kristalle finden. An den rautenförmig begrenzten Kristallen von 001 zeigt sich der Austritt einer optischen Achse mit positivem Charakter; es wird *monokline* Symmetrie angenommen.

12. Succinimid I 126°, II 124°. Die Dimorphie wurde bereits von *Schaeling*[19] (siehe auch *Deffet*[23]) festgestellt. Aus der Schmelze kristallisiert nur II in strahligen Aggregaten mit lebhaften Interferenzfarben; bald entsteht I und wandelt alles zu grauen Platten um. Der Schmelzpunkt von II wird im kleinen Tropfen bestimmt. Nach *Groth*[24] ist Succinimid *rhombisch bipyramidal*. Im mikroskopischen Präparat erhält man Platten mit dem Austritt der II. M., Rauten mit der I. M. und Sechsecke mit dem Austritt einer optischen Achse bei mittelgroßem A. W. und positiver Doppelbrechung.

Die instabile Form zeigt teils gerade, teils schief auslöschende Kristalle, an grauen Rauten sieht man den Austritt der I. M. α mit sehr kleinem A. W. Vermutlich liegt *monokline* Symmetrie vor.

13. 1,2,6-Dinitrophenol I 63,5, II 54°. Die Schmelze erstarrt meist zu derben Strahlen und Platten von II, die aber bald von I in körnige oder feinfleckige Aggregate umgewandelt werden. Der Schmelzpunkt von II wird im kleinen Tropfen bestimmt.

Nach dem Schrifttum[25] liegt rhombisch bipyramidale Symmetrie vor, A. E. parallel 010, I. M. Achse a, positiv. Im mikroskopischen Präparat entstehen aus dem Gleichgewicht häufig zuerst Deltoide mit dem Austritt einer optischen Achse. Die instabile Form zeigt neben gerade auslöschenden auch schiefauslöschende Stengel und dürfte sich *monoklin* verhalten; A. W. mittelgroß, neg., starke Dispersion $\varrho < v$.

14. 2,4,6-Tribromphenol I 94° $\rightleftarrows$ II 92°, u = 84°. In dem aus der Schmelze entstandenen derbstrahligen Kristallisat von I bilden sich bei R. T. spontan nach etwa 10 bis 20 Minuten Herde von II, die unter Entwicklung eines strauchartigen Gefüges allmähliche Umwandlung bewirken. Bei Übertragen

auf den Heiztisch sieht man beim Erwärmen zunächst eine Zunahme der U. G.; ab 80° verlangsamt sich der Vorgang, bei 84° ist Gleichgewicht zwischen II u. I. Ab 85° ist bereits die Rückverwandlung in I zu erkennen. Der Schmelzpunkt von II läßt sich an Fragmenten auf einem abgelösten Deckglas bestimmen.

Nach der Literatur[26] ist die Raumtemperaturform II monoklin, A. E. parallel 010. Mod. I zeigt gerade auslöschende Stengel oder solche mit geringer schiefer Auslöschung; auf 001 liegende Kristalle sind häufig sechseckig (Prisma [89°] und Querflächen), sie zeigen den Austritt der I. M., A. W. mittelgroß; daher liegen monokline (pseudorhombische) Symmetrieverhältnisse vor.

15. Methylharnstoff (Methylcarbamid) I 103°, II 101°. Im Schrifttum ist die Dimorphie schon lange bekannt, jedoch ohne Angabe des Schmelzpunktes für II[14, 19, 26].

Aus der Schmelze entsteht in der Regel nur die instabile Form in derbstrahligen Sphärolithen. Während des Erwärmens zeigen sich zunächst Umlagerungen, die besonders an den Korngrenzen zur Bildung neuer Kristallkörner führt; erst ab etwa 80° bilden sich Keime von I, die zu derben, rechteckigen Platten unter Aufzehrung von II heranwachsen. Die U. G. ist jedoch nicht sehr groß, so daß häufig der Schmelzpunkt von II ohne Umwandlung erreicht werden kann.

Nach *Mez*[27] bildet Methylharnstoff *pseudotetragonale rhombische* Kristalle, die Ähnlichkeit mit den tetragonalen Kristallen des Harnstoffs zeigen. A. E. 001, I. M. Achse a, Dispersion $\varrho > v$. Im mikroskopischen Präparat erhält man bei Methylharnstoff I Vierecke mit einem Winkel von 88° und symmetrischer Auslöschung, daneben große, gerade auslöschende Platten mit dem Austritt der I. M. α und querliegender A. E. Die instabile Form II bildet gerade auslöschende Stengel mit A. E. längs, negativ und größerem A. W.; daneben schief auslöschende Stengel, daher ist *monokline* Symmetrie wahrscheinlich.

16. p,p′-Dichlor-diphenyl-trichloräthan I 109°, II 95°. Die Schmelze kristallisiert bei Unterkühlung auf Raumtemperatur sehr schwer; es entstehen hauptsächlich Keime von I, die zu sehr feinstrahligen Sphärolithen mit lebhaften Interferenzfarben heranwachsen. II bildet dagegen grau bis gelbe, glattstrahlige Sphärolithe. Während des Erwärmens oder bei längerem Liegen wandelt sich II immer zu I um. Der Schmelzpunkt von II ist nur an Fragmenten an einem abgerissenen Deckglas zu bestimmen. Beide Modifikationen zeigen das Blasenphänomen[16] bei sehr träger Kristallisation.

Die Stengel von I aus dem Gleichgewicht löschen gerade aus; an den grauen Kristallen sieht man den Austritt der I. M. γ bei kleinem A. W.; *rhombische Symmetrie* ist wahrscheinlich.

17. p-Acetotoluid I 151°, II 145° ist als dimorph bekannt. Nach Angaben von *Slijper*[28] und *Panebianco*[29] kristallisiert I *monoklin*, II *rhombisch bipyramidal*. Über den Schmelzpunkt von II lagen bisher keine Angaben vor.

Herrn Dr. *W. C. McCrone* danke ich auch an dieser Stelle für die freundliche Übersendung von Benzotriazol und p,p′-Dichlor-diphenyl-trichloräthan.

Literatur.

[1] *L.* und *A. Kofler*, Mikromethoden zur Kennzeichnung organischer Stoffe und Stoffgemische. Innsbruck, Universitätsverlag Wagner 1948.

[2] *K. Schaum*, Liebigs Ann. Chem. **411**, 192 (1916); ebenda **542**, 78 (1939); Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **46**, 228 (1940); *K. Schaum* und *E. A. Scheidt*, Z. anorg. allg. Chem. **188**, 52 (1930).

[3] *O. Lehmann*, Molekularphysik, Leipzig 1888.
[4] *A. Kofler* und *M. Brandstätter*, Z. physik. Chem. **192**, 60 (1943).
[5] *A. Kofler* und *M. Brandstätter*, Mh. Chem. **78**, 65 (1948).
[6] *A. Kofler*, Z. phys. Chem. (A) **187**, 363 (1941); Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **47**, 810 (1941); Naturwiss. **31**, 553 (1943).
[7] *M. Brandstätter*, Mikrochem. **33**, 25 (1947).
[8] *C. Weygand*, Chemische Morphologie. Leipzig 1941.
[9] *C. Weygand*, Z. physik. Chem. (B) **60**, 243 (1927).
[10] *A.* und *L. Kofler*, Mh. Chem. **78**, 13 (1948).
[11] *G. Tammann*, Heterogene Gleichgewichte. Braunschweig 1924; *R. Vogel*, Die heterogenen Gleichgewichte. Leipzig 1937.
[12] *Friedländer*, Z. Kryst. **1**, 623 (1877); zit. nach *P. Groth*, Chem. Kristallographie V. B. 429. Leipzig 1919.
[13] *O. Lehmann*, Z. Kryst. **10**, 1 (1885).
[14] *A. H. Müller*, Z. physik. Chem. **86**, 177 (1914).
[15] *Kahrs*, Z. Kryst. **40**, 482 (1905); zit. nach *P. Groth* l. c. IV 157 u. 225. Leipzig 1917.
[16] *F. Bernauer*, Neues Jb. Mineral., Geol. Paläont., Beil.-Bd. Abt. A **57**. 1131 (1928); *C. Weygand*, Ber. dtsch. chem. Ges. **62**, 566 (1929).
[17] *Keith*, Neues Jb. Mineral., Geol. Paläont., Beil.-Bd. **6**, 190 (1889), zit. nach *P. Groth*, l. c. V. Bd., S. 53.
[18] *Keith*, Neues Jb. Mineral., Geol. Paläont., Beil.-Bd. **6**, 177 (1889).
[19] *K. Schaeling*, Zur Kenntnis der polymorphen Körper. Dissertation. Marburg 1910.
[20] *Wallérant*, Bull. Soc. franc. Mineral. **43**, 45 (1907). Ausz. Z. Kryst. **46**, 498 (1907).
[21] *P. Groth*, l. c. III. Bd., S. 235.
[22] *Bodewig* und *Howe*, Z. Kryst. **3**, 413 (1879), zit. nach *Groth*, l. c. V. Bd., S. 25.
[23] *L. Deffét*, Rep. des Composés organiques polymorphes. Desoer. Liége 1942.
[24] *Bunge* (Krist. best. v. *Groth*), Liebigs Ann. Chem., Suppl. **7**, 118 (1870).
[25] *Steinmetz*, Z. Kryst. **54**, 484 (1915); zit. nach *Groth*, l. c. Bd. IV, S. 111.
[26] *K. Schaum*, *K. Schaeling* und *F. Klausing*, Liebigs Ann. Chem. **411**, 161 (1916).
[27] *Mez*, Z. Kryst. **35**, 242 (1902), zit. nach *Groth*, l. c. III. Bd., S. 550.
[28] *Slijper*, Mitt. a. d. min. Inst. d. Univ. Groningen **1**, 13 (1908). Ausz. Zeitschr. f. Kryst. **45**, 406 (1908).
[29] *Panebianco*, Gazz. chim. ital. **9**, 358 (1879).

Aus dem Hygienischen Institut der Universität Wien.

Ein mikroanalytischer Nachweis des Glycerins mit 2,7-Dioxynaphthalin.

Von

K. Fürst.

(Eingelangt am 31. März 1948.)

Eegriwe[1] hat das 2,7-Dioxynaphthalin in konz. Schwefelsäure zum Nachweis der Glykolsäure empfohlen. Auf dem Umwege über die Glykolsäure ließ sich auch die Oxalsäure[2] mit dem gleichen Reagens durch eine empfindliche Farbreaktion bestimmen. Eine Anzahl von Polyoxyverbindungen und einige Oxysäuren geben mit 2,7-Dioxynaphthalin ebenfalls deutliche Färbungen, die zum Teil von Fluoreszenzerscheinungen begleitet sind. Die Farbreaktionen einiger Aldehyde mit dem Reagens sind von *Eegriwe*[2] gleichfalls beschrieben worden.

Die mikroanalytischen Bestimmungsmethoden des Glycerins bevorzugen bei dem Mangel an direkten charakteristischen Färbungs- und Fällungsmethoden indirekte Verfahren, die den gewünschten Nachweis über ein Reaktionsprodukt des Glycerins, meist einen Aldehyd[3] zu erbringen versuchen. Der Nachweis über Acrolein[4] erfordert Erhitzen mit wasserentziehenden Mitteln. Die Destillationsmethoden zur Überführung des Glycerins in Acrolein mittels Bisulfat oder krist. Phosphorsäure verlangen wasserfreies Material und können durch die Bildung unerwünschter Reaktionsprodukte (Furfurol) aus Begleitsubstanzen (z. B. Hexosen) den Nachweis mittels einer Farbreaktion stören.

Direkter Nachweis des Glycerins.

Rasch und einfach läßt sich Glycerin in verdünnten wäßrigen Lösungen, die möglichst frei von störenden Begleitsubstanzen sein sollen, mit 2,7-Dioxynaphthalin in konz. Schwefelsäure nachweisen. Der durch die wasserentziehende Wirkung der Schwefelsäure entstandene Aldehyd Acrolein[5] kondensiert sich mit dem in der konz. Schwefelsäure gelösten 2,7-Dioxynaphthalin nach kurzem Erhitzen im siedenden Wasserbade zu einem Kondensationsprodukt von enormer Farbkraft und prachtvoller

Fluoreszenz. Färbung und Fluoreszenz sind auch bei längerem Erhitzen im Wasserbade beständig.

Ausführung. 2 ccm einer 0,01 g 2,7-Dioxynaphthalin in 100 ccm konz. Schwefelsäure (d = 1,84) enthaltenden Lösung werden mit ein bis zwei Tropfen der Probelösung in einem Reagensrohre im siedenden Wasserbade etwa 20 bis 25 Minuten erhitzt. Je nach der Glycerinmenge tritt eine gelbe bis rotgelbe Färbung mit tiefgrüner Fluoreszenz auf.

Erfassungsgrenze: 1,5 γ.

Grenzkonzentration: 1 : 33000.

Der Nachweis wird durch die normalen einwertigen Alkohole, wenn sie aldehydfrei sind, nicht gestört. Glykol gibt unter den gleichen Bedingungen eine grüne Farbreaktion mit grüner Fluoreszenz, die im siedenden Wasserbade bei fortschreitendem Erhitzen nachdunkelt, während die Fluoreszenz undeutlich wird. Erfassungsgrenze: zirka 400 γ. Sorbit, Mannit und Dulcit färben die Schwefelsäurelösung des 2,7-Dioxynaphthalins braungelb mit grüner Fluoreszenz. Die Erfassungsgrenze beträgt ungefähr 200 γ. Die Mehrzahl der Mono- und Disaccharide gibt mit der Reagenslösung beim Erhitzen im Wasserbade unter Verkohlung Dunkelfärbung. Ameisensäure, Essigsäure, Bernsteinsäure, Zitronensäure, Benzoesäure und Salicylsäure geben keine Farbreaktionen, wie schon *Eegriwe*[1] mitteilte. Milchsäure und Äpfelsäure liefern Gelbfärbungen mit schwacher Fluoreszenz. Einige Aldehyde reagieren mit 2,7-Dioxynaphthalin unter gleichen Bedingungen durch die Bildung tiefgefärbter oxydabler Kondensationsprodukte mit Farbreaktionen, die zum Teil von Fluoreszenzerscheinungen begleitet sind.

Liegen Begleitsubstanzen vor, die den direkten Nachweis des Glycerins mit der Schwefelsäurelösung des Dioxynaphthalins durch Verfärbung oder Verkohlung stören, so empfiehlt sich eine Abänderung nach dem Verfahren von *K. Täufel* und *H. Thaler*.[6] Der trockene Rückstand der auf Glycerin zu prüfenden Lösung wird mit etwa 2 g eines 40%igen Kalkbreies am Wasserbade mehrmals zur Trockne gebracht und mit einem gleichteiligen Gemische von Alkohol und Äther ausgezogen. Der Auszug wird am Wasserbade eingedampft, mit dem gleichen Gemisch von wasserfreiem Alkohol und Äther aufgenommen und filtriert. Man verdampft dann das Filtrat in einem Reagensrohre, versetzt den trockenen Rückstand im Reagensrohre mit 2 ccm der Schwefelsäurelösung des 2,7-Dioxynaphthalins und erhitzt im siedenden Wasserbade durch etwa 20 Minuten. Gelbfärbung mit grüner Fluoreszenz zeigt Glycerin an.

Eine Lösung von 0,01 g 2,7-Dioxynaphthalin in konz. Schwefelsäure besitzt frisch bereitet eine tiefgelbe Farbe mit deutlich grüner Fluoreszenz. Beim Stehen über Nacht oder kurzem Erwärmen verschwindet zunächst Farbe und Fluoreszenz. Einige Oxydationsmittel wie Persulfat, Wasserstoffsuperoxyd, Chlorat und Chromat färben die Lösung allmählich

violett, nach längerem Stehen an der Luft tritt eine schwach rötliche bis violettrote Färbung auf, die sich immer mehr vertieft. Auch die Belichtung und vor allem die Reinheit des Lösungsmittels sind nicht ohne Einfluß auf die Farbe. Schwach rötlich gefärbte Reagenslösungen lassen sich ohne weiteres für den Glycerinnachweis verwenden. Es erscheint dann, besonders bei kleinen Glycerinmengen, die Anstellung eines Blindversuches empfehlenswert.

Indirekter Nachweis von Glycerin.

Die Farbreaktionen der Glykolsäure mit einer Lösung von 2,7-Dioxynaphthalin in konz. Schwefelsäure wird von *Eegriwe*[2] auf den aus der Glykolsäure sich abspaltenden Formaldehyd zurückgeführt, der sich mit dem Dioxynaphthalin vermutlich zu Tetraoxy-dinaphthylmethan kondensiert und nachträglich an der Luft zu einem tiefroten Farbstoff oxydiert wird. Tatsächlich gibt das Reagens mit Formaldehyd violettrote Farbtöne, deren Nuance sich nach längerem Stehen an der Luft ändert und vertieft. Einige andere Aldehyde geben gleichfalls Farbreaktionen von großer Intensität. Da auch Glycerinaldehyd mit 2,7-Dioxynaphthalin in konz. Schwefelsäure deutliche Farbreaktionen gibt, ist ein Nachweis des Glycerins über seine Oxydationsprodukte[7] auf indirektem Wege möglich, wahrscheinlich ist an dieser Farbreaktion auch das in saurer Lösung aus Dioxyaceton entstehende Methylglyoxal beteiligt.

Ausführung. 0,1 ccm der auf Glycerin zu prüfenden Lösung wird mit 0,1 ccm einer n/10 Kaliumpermanganatlösung im siedenden Wasserbade erhitzt. Nach 10 Minuten entfärbt man mit 0,1 ccm einer Oxalsäure-Schwefelsäurelösung (5 g krist. Oxalsäure in 50 ccm Wasser gelöst und mit 50 ccm konz. Schwefelsäure (d = 1,84) unter Kühlung auf 100 ccm aufgefüllt), läßt abkühlen und versetzt einige Tropfen mit 2 ccm der Reagenslösung. Nach längerem Erhitzen im siedenden Wasserbade zeigt Rotviolettfärbung bis Rotfärbung Glycerin an.

Erfassungsgrenze: 10 γ.

Grenzkonzentration: 1 : 10000.

Die Oxydation des Glycerins zum Gemisch von Glycerinaldehyd und Dioxyaceton kann auch nach *Denigès*[8] durch Kochen mit frisch bereitetem Bromwasser durchgeführt werden. Das Reaktionsgemisch wird nach dem Wegkochen des Broms mit dem Dioxynaphthalinreagens nachgewiesen.

Ausführung. 0,1 ccm der auf Glycerin zu prüfenden Lösung wird mit 0,9 ccm frisch bereitetem 3%igem Bromwasser ungefähr 10 Minuten in einem Reagensrohre im siedenden Wasserbade erhitzt. Nach dem Wegkochen des Bromüberschusses wird 0,1 ccm der Lösung mit 2 ccm des Reagens versetzt und weitere 20 Minuten im siedenden Wasserbade gelassen. Rotviolettfärbung zeigt das Vorhandensein von Glycerin an.

Der Versuch, die konz. Schwefelsäure durch eine hochprozentige Phosphorsäure zu ersetzen, um eine Störung der Farbreaktion durch eine unerwünschte Verkohlung oder Verfärbung etwaiger Begleitstoffe zu vermeiden und durch eine höhere Reaktionstemperatur eine vollständigere Umwandlung des Glycerins in den Aldehyd zu erzwingen, schlug fehl. Die sirupöse Phosphorsäure reicht offenbar nicht zum Wasserentzuge aus. Dagegen kondensieren sich Aldehyde in sirupöser Phosphorsäure mit einer konz. wäßrigen Lösung von 2,7-Dioxynaphthalin zum Teil unter anderen Farberscheinungen als in der Schwefelsäurelösung des Dioxynaphthalins. Untersucht wurden die Farbreaktionen von Formaldehyd, Acetaldehyd und Acrolein mit Rücksicht auf ihre Bedeutung für den Glykolsäurenachweis nach *Eegriwe*[2] durch Formaldehydabspaltung und die Glycerinbestimmung über den Aldehyd Acrolein.

Formaldehyd gibt mit der 2,7-Dioxynaphthalin-Schwefelsäurelösung in Konzentrationen bis 1 mg braunrote Farbtöne. Stärkere Verdünnungen färben die Schwefelsäurelösung violettrot bis rot. Erfassungsgrenze: 0,3 γ. Auch mit Phosphorsäure (d = 1,7) unter Zusatz einiger Tropfen einer konz. wäßrigen Lösung von 2,7-Dioxynaphthalin wird im siedenden Wasserbade die gleiche Farbnuance und Erfassungsgrenze erhalten. Acetaldehyd gibt unter den gleichen Bedingungen ähnliche Farbtöne, die aber von einer tiefgrünen Fluoreszenz begleitet sind und einen Nachweis des Aldehyds bis ungefähr 0,05 γ gestatten. Acrolein färbt die schwefelsaure Reagenslösung gelb bis gelbrot mit prachtvoller grüner Fluoreszenz. 2 ccm Phosphorsäure (d = 1,7) mit einigen Tropfen einer gesättigten wäßrigen Lösung von 2,7-Dioxynaphthalin versetzt, färben sich im siedenden Wasserbade mit Acrolein gelbrot mit stark gelbroter Fluoreszenz, bei stärkeren Verdünnungen erscheinen violettrote Farbtöne mit grünen Fluoreszenzerscheinungen. Erfassungsgrenze: 0,03 γ. Die höheren Aldehyde, z. B. Butyraldehyd, geben meist braunrote Farbnuancen, die manchmal von Fluoreszenzerscheinungen begleitet sind. Furfurol färbt die schwefelsaure Reagenslösung braunschwarz unter Verkohlung.

Zusammenfassung.

Ein Nachweis des Glycerins gelingt mit einer Lösung von 2,7-Dioxynaphthalin in konz. Schwefelsäure. Durch Kondensation des unter Wasserabspaltung entstehenden Aldehyds Acrolein mit 2,7-Dioxynaphthalin unter Einfluß der konz. Schwefelsäure entsteht eine gefärbte Verbindung, die sich unter Fluoreszenz in der Schwefelsäure löst.

Nach der Oxydation zu Glycerose läßt sich Glycerin mit dem genannten Reagens ebenfalls mittels einer Farbreaktion nachweisen.

Die Farbreaktionen und Erfassungsgrenzen der Aldehyde Formaldehyd, Acetaldehyd und Acrolein mit 2,7-Dioxynaphthalin in konz.

Schwefelsäure werden untersucht und ihre Brauchbarkeit für den Nachweis dieser Aldehyde festgestellt.

Literatur.

[1] *E. Eegriwe*, Z. analyt. Chem. **89**, 123 (1932).
[2] *E. Eegriwe*, Z. analyt. Chem. **89**, 125 (1932).
[3] *W. C. Powick*, J. Agric. Res. **26**, 323 (1923); vgl. Z. analyt. Chem. **80**, 394 (1930). — *J. Pritzker*, Helv. chim. Acta **11**, 445 (1928); vgl. Z. analyt. Chem. **88**, 239 (1932).
[4] *F. Feigl*, Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen. 2. Aufl. S. 416.
[5] *R. J. Anderson* und *E. Chargaff*, J. Biol. Chemistry **84**, 703 (1929).
[6] *K. Täufel* und *H. Thaler*, Z. analyt. Chem. **95**, 235 (1933).
[7] *Welwart*, Seifensieder Ztg. **63**, 372 (1936).
[8] *L. Rosenthaler*, Der Nachweis organischer Verbindungen. 1923. — *H. Alber*, Mikrochemie **7**, 21 (1929). — *G. Denigès*, C. R. Acad. Sci. **148**, 570 (1909).

Aus dem Institut für biochemische Technologie und Lebensmittelchemie der Technischen Hochschule Graz.

Anwendung von Mikromethoden auf dem Fettgebiet XII.[1] Die Seifenanalyse.

Von

G. Gorbach.

(Eingelangt am 2. April 1948.)

Mikrochemische Arbeitsweisen bieten auch in der Untersuchung von Seifen und seifenhaltigen Produkten wesentliche Vorteile, die neben den bekannten hauptsächlich in der raschen Durchführbarkeit liegen. So ist diese Arbeitstechnik in hervorragendem Maße für die Betriebsanalyse wie auch für die Qualitätsüberprüfung von Waschmitteln geeignet.

Im folgenden geben wir nun Arbeitsvorschriften zur Bestimmung der Fettsäuren, des Unverseifbaren, des gesamten und gebundenen Alkali, des freien und Carbonatalkali, des Wassers, des Kochsalzes und der Füllstoffe bekannt.

Bezüglich der Einwaagen ergeben sich, wie dies überhaupt bei Mikromethoden der Fall ist, optimale Grenzen, die weder über- noch unterschritten werden dürfen. Im letzteren Falle ist diese Menge durch die Leistungsfähigkeit der Hilfsmittel gegeben, während die an und für sich vom Chemiker sonst bevorzugte Verwendung größerer Mengen als unbedingt erforderlich, mit einem höheren Zeitaufwand erkauft werden muß. Dies konnten wir auch hier wiederum feststellen. Die Einwaagen betragen durchschnittlich 5 bis 10 mg für die Bestimmung der Haupt- und 50 bis 100 mg für die der Nebenbestandteile von Seifen.

Die heute vielfach verwendeten Ersatzmittel bzw. Fettaustauschstoffe sind noch nicht berücksichtigt. Es handelt sich um die normale Untersuchung von Seifen auf Basis von Fettsäuren aus Naturfetten. Die Sulfonate sind insofern bestimmbar, als sie sich aus der Differenz des Gesamtseifengewichtes und der möglichst genau zu ermittelnden übrigen Bestandteile ergeben.

I. Bestimmung der Gesamtfettsäuren und des Unverseifbaren.

Wie unsere Versuche gezeigt haben, lassen sich solche Bestimmungen bereits mit Einwaagen von 5 bis 10 mg ausführen.

1. *Bestimmung des Unverseifbaren.* Von feinst zerkleinerten Seifenspänen werden in der Glasöse auf der Feinwaage von *Loebe & Kühn*[2] oder aber direkt im Spitzröhrchen (große Ausführungsform) auf der mikroanalytischen Waage 5 bis 10 mg Seife abgewogen. Sie werden im Spitzröhrchen mit 1 ml eines heißen Gemisches von Wasser-Alkohol (92%ig) 1 : 1 versetzt und auf dem Trockenblock von 106° aufgelöst. Dann läßt man abkühlen und schüttelt mit dem Storchenschnabel dreimal mit je 0,5 ml Petroläther oder Äther aus. Die erhaltenen Extrakte werden in einem zweiten Spitzröhrchen gesammelt. Zum Trocknen gibt man eine kleine Messerspitze entwässertes Natriumsulfat zu und läßt etwa eine halbe Stunde unter öfterem Umschütteln bedeckt stehen. Man filtriert nun an der Filtrierglocke mittels eines Papierfilterstäbchens von 3 mm Durchmesser ab, wäscht mit peroxyd- und wasserfreiem Äther dreimal nach und läßt dann die in der Filtrierpipette gesammelten Ätherauszüge unter Nachwaschen mit Äther in ein gewogenes Spitzröhrchen ab. Die gesammelten Ätherextrakte werden im Vakuum bei Zimmertemperatur gewichtskonstant getrocknet (Dauer etwa 60 bis 90 Minuten). Ist wenig Unverseifbares vorhanden, so ist die Probe mit einer erhöhten Einwaage von 30 bis 40 mg zu wiederholen. Bei dieser Einwaage ist die Ausführung der Bestimmung gleichgeartet, nur sind größere Mengen Lösungsmittel zum Auflösen und Extrahieren des Unverseifbaren erforderlich. So benötigt man vom Alkoholwassergemisch etwa 1,5 ml, für die Extraktion insgesamt 2 bis 3 ml.

2. *Bestimmung der Gesamtfettsäuren.* Nach dem Abtrennen des Unverseifbaren oder, sofern dies nur Zehntelprozente beträgt, ohne Abtrennung, wird zu der wie oben in Wasser-Alkohol aufgelösten Seife 0,5 n Salzsäure zufließen gelassen, bis die mit einem kleinen Tröpfchen Methylorange versetzte Lösung rot wird. Man schüttelt nun mit Äther oder Petroläther (wenn die Oxyfettsäuren nicht mit erfaßt werden sollen) im Storchenschnabel dreimal aus, und zwar zuerst mit 1 bis 2 ml und dann mit je 0,5 ml. Will man die Bestimmung des gesamten Alkalis in ein und derselben Probe durchführen, so gibt man aus der Mikrobürette nach *Gorbach* eine abgemessene Menge 0,5 n Salzsäure im Überschuß hinzu (für die obengenannte Einwaage erfahrungsgemäß etwa 100 bis 150 μl).

Nach Abtrennung der Fettsäuren filtriert man den Überschuß an Salzsäure mit 0,5 n Natronlauge zurück. Die Abtrennung der Fettsäuren wird in der gleichen Weise ausgeführt, wie dies bereits für das Unverseifbare oben angegeben worden ist. Nach dem Ansäuern mit Salzsäure erwärmt man vorsichtig, um die Fettsäuren an der Oberfläche

zu sammeln, wodurch die Flüssigkeit klar wird, und schüttelt dann mit Äther aus. Die gesammelten Ätherextrakte werden wie oben getrocknet und gewogen.

Es empfiehlt sich, wie eine Reihe von Versuchen gezeigt hat, nicht, bei höherer Temperatur im Vakuum zu trocknen. Schon bei 40° treten erhebliche Verluste auf. Auch ist es nicht zweckmäßig, höhere Einwaagen für die Bestimmung der Fettsäuren zu verwenden als 5 bis 10 mg, wie aus Versuchen mit Einwaagen von 30 bis 40 mg, die zur Bestimmung geringfügiger Mengen an Unverseifbarem erforderlich sind, hervorgeht. Man benötigt dafür bereits erheblich mehr Äther zur Extraktion, muß öfters ausschütteln, was wiederum zu Zeitverlusten führt. Die Ergebnisse sind, wie die Tab. 1 zeigt, dadurch auch etwas niedriger. Es gibt, wie dieser Fall sehr schön zeigt, optimale Einwaagen, die am besten durch Reihenversuche beim Aufbau einer Methode ermittelt werden.

Tabelle 1. Testbestimmungen der Gesamtfettsäuren und des Unverseifbaren.

Einwaage 10 mg.

Seife	Gesamtfettsäuren			Mittelwerte		Unverseifbares	
				Mikroverfahren	Makroverfahren	Mikroverfahren	Makroverfahren
Kernseife I	75,90	75,34	75,58	75,61	74,84	5,15	5,00
Kernseife II	72,20	72,62	72,95	72,25	71,70	8,09	8,02
Kernseife II Einwaage 40 mg	72,00	71,70	71,20	71,63			
Rasierseife I	81,00	80,86	81,25	81,07	80,60		
Rasierseife II	79,82	79,60	80,06	79,83	80,00		
RIF-Seife I	13,62	13,38		13,50			
RIF-Seife II	14,47	17,68		17,57			

In Tab. 1 ist eine Reihe von Parallelbestimmungen für verschiedene Seifen angegeben und mit den entsprechenden, auf makroanalytischem Wege ermittelten Analysenwerten in Vergleich gesetzt. Die Differenzen sind praktisch zu vernachlässigen. Es zeigt sich, daß die Mikrowerte durchschnittlich höher sind. Dies kommt daher, weil man hier relativ wesentlich mehr an Extraktionsmitteln verwendet und daher quantitativer extrahieren kann.

II. Bestimmung des gesamten und gebundenen Alkali.

Diese Bestimmungen werden üblicherweise mit der oben beschriebenen Bestimmung der Gesamtfettsäuren verbunden.

1. *Gesamtalkali:* Nach Auflösen von 5 bis 10 mg Seife in einem Gemisch von Wasser-Alkohol (s. u. I, 1) wird mit 100 bis 150 μl 0,5 n Salzsäure

versetzt, jedenfalls so viel, bis sich der zugesetzte Indikator, Methylorange, stärker rot färbt. Dann schüttelt man — wie oben — die Fettsäuren aus und titriert die von den Fettsäuren auf diese Weise befreite wäßrige Lösung, nach Entfernung der Ätherreste am erwärmten Trockenblock, mit 0,5 n Natronlauge zurück. Zur Berechnung des Gesamtalkali dienen, je nachdem ob Natrium- oder Kaliumseifen vorliegen, folgende Formeln:

$$\text{als } Na_2O = \frac{a \cdot 1{,}55}{E},$$

$$\text{als } K_2O = \frac{a \cdot 2{,}35}{E}, \quad E = \text{Einwaage}, \quad a = \mu l \text{ 0,5 n-HCl}.$$

2. *Gebundenes Alkali:* Die beim Ausschütteln mit Äther oder Petroläther erhaltenen Fettsäuren oder, bei zu großen Mengen, ein aliquoter, abgewogener Anteil von 5 bis 10 μl, wird im großen Spitzröhrchen in absolutem Alkohol unter dem Mikrorückflußkühler aufgelöst und nach dem Erkalten mit 0,5 n Natronlauge bzw. Kalilauge, unter Zugabe von Phenolphthalein als Indikator titriert. Der Eigenverbrauch an Lauge durch den absoluten Alkohol ist durch eine Blindprobe zu bestimmen und in Abzug zu bringen.

Bei Seifen mit niedrigem Alkaligehalt verwendet man zur Erzielung einer höheren Genauigkeit statt halbnormaler $^n/_{10}$ Salzsäure bzw. Natronlauge.

Die Brauchbarkeit unserer Methodik ist aus der Tab. 2 zu ersehen.

Tabelle 2. Testbestimmungen des gesamten und gebundenen Alkali.

Seife	Gesamtalkali			Mittelwerte	
				Mikroverfahren	Makroverfahren
Kernseife I	10,96	10,92	10,84	10,90	10,76
Rasierseife I	15,01	15,25	15,19	15,15	15,06
Rasierseife II	15,14	15,78	14,86	14,93	14,74
RIF-Seife I	1,17	1,14		1,16	1,18

Seife	Gebundenes Alkali			Mittelwerte	
				Mikroverfahren	Makroverfahren
Kernseife I	8,56	8,40	8,48	8,48	8,32
Rasierseife I	14,93	14,72	14,70	14,75	14,70
Rasierseife II	14,62	14,44		14,53	

III. Bestimmung des freien und Karbonatalkali.

Größere Schwierigkeiten bieten diese Bestimmungen, die bekanntlich auch makrochemisch noch nicht befriedigend durchgeführt werden können.

Man benutzt hierzu die von *Cl. Winkler*[3] ausgearbeitete Methodik, wobei sich noch am besten eine von *Sörensen* und *Anderson* angegebene Arbeitsweise eignet. Wir haben darnach mit Hilfe unserer Mikrobürette zunächst den Hydroxydgehalt einer $^n/_2$ Natronlauge mikroanalytisch im Vergleich zur üblichen Makroanalyse bestimmt. Wir fanden mikroanalytisch bei Verwendung von 100 μl 84,7% Natriumhydroxyd, makroanalytisch 84,4% und in einer $^n/_2$ Kalilauge bei Verwendung von 100 μl 90,4%, makroanalytisch 90,2%. Es konnte damit gezeigt werden, daß die Bestimmung der Hydroxyde und Karbonatgehalte nach *Winkler* mikroanalytisch jedenfalls mit keinen höheren Fehlerquellen behaftet ist, als man dies bei der Makroanalyse in Kauf nehmen muß. Es ist selbstverständlich, daß solche Bestimmungen nur dann zu richtigen Resultaten führen, wenn für die absolute Kohlensäurefreiheit der Umgebung Sorge getragen wird. Wir leiteten über die Probe kurz vor der Titration einen kohlensäurefreien Luftstrom und sorgten durch Lüften des Raumes für möglichste Kohlensäurefreiheit. Auf diese Weise gelingt es auch, das Karbonatalkali mit praktisch genügender Genauigkeit zu bestimmen.

1. *Freies Alkali:* 56 mg Seife werden in einem großen Spitzröhrchen eingewogen und unter dem Mikrorückflußkühler am Heizblock in 1 ml 96%igem Alkohol gelöst. Der hierzu verwendete Alkohol wird zuvor durch Kochen unter dem Rückfluß mit $^n/_{10}$ Lauge gegen Phenolphthalein neutralisiert. Nach dem Erkalten der gelösten Probe leitet man über die Lösung kohlensäurefreie Luft, gibt während dessen 0,25 ml einer 10%igen Bariumchloridlösung hinzu und schüttelt kräftig um, damit sich der Niederschlag zusammenballt und beim Stehen absetzt. Nun wird, wie üblich, mit n/10 Salzsäure unter Zugabe von Phenolphthalein langsam titriert.

$$\%\text{freies Alkali} = \frac{a}{100}, \quad a = \text{Verbrauch } \mu\text{l } {}^n/_{10}\text{ HCl}.$$

2. *Karbonatalkali:* 56 mg Seife werden, wie oben, in 1 ml Alkohol gelöst und direkt mit $^n/_{10}$ Salzsäure und Methylorange als Indikator möglichst rasch titriert. Die Berechnung des Karbonatalkali ist dann gegeben

$$\%\text{ Karbonatalkali} = 0{,}0246\ (b - a),$$

wobei a die $^n/_{10}$ Salzsäure bei der Hydroxydbestimmung, b die entsprechende Menge bei der Karbonatbestimmung bedeuten.

Bei exakten Bestimmungen des Alkali- und Karbonatgehaltes ist der Laugenverbrauch des Alkohols trotz seiner Neutralisation durch eine Blindprobe zu bestimmen und dem Salzsäureverbrauch zuzuzählen.

Zur genauen Bestimmung kleiner Gehalte empfiehlt es sich, statt $^n/_{10}$ Salzsäure $^n/_{50}$ zu verwenden.

Testbestimmungen hierzu sind in Tab. 3 zusammengefaßt.

Tabelle 3. Testbestimmungen des Alkali- und Karbonatgehaltes in Kern- bzw. Toiletteseifen.

Einwaage 56 mg.

Seife	Freies Alkali			Mittelwerte	Karbonatalkali		Mittelwerte
Probe 1	0,277	0,282	0,269	0,276	2,436	2,478	2,457
Probe 2	0,052	0,055	—	0,054	0,348	0,361	0,355
Probe 3	0,037	0,041	0,047	0,039	0,462	0,480	0,471
Probe 4	0,044	0,047	—	0,046	0,155	0,146	0,151

IV. Die Wasserbestimmung in Seifen.

Für die Bestimmung des Wassergehaltes in Seifen wird im allgemeinen die Trockenschrankmethode oder neuerdings auch die Destillationsmethode verwendet. Wir haben bereits in der 8. Mitteilung dieser Reihe eine volumetrische Mikromethode beschrieben, die auf der Entwicklung einer dem Wasser äquivalenten Menge Acetylen beruht, deren Volumen in der Gasbürette gemessen wird. Es hat sich nun gezeigt, daß diese außerordentlich leistungsfähige Methode auch zur Bestimmung des Feuchtigkeitsgehaltes von Seifen brauchbar ist. Es ist nur notwendig, die eingewogenen Seifenspäne mit Sand zu verreiben, damit das vorhandene Wasser vom Calciumkarbid besser erfaßt werden kann.

Tabelle 4. Wassergehaltsbestimmungen in Seifen nach der Mikro-Acetylen- und -Trockenschrankmethode.

Seife	Einwaagen mg	CaC_2-Methode		Mittelwerte	Trockenschrankmethode
RIF 0163	200	3,30	3,23	3,27	3,43
Kernseife	100	5,72	5,63	5,68	5,88
Rasiercreme	200	29,42	29,60	29,51	30,15
Toiletteseife.....	200	9,32	9,46	9,39	9,70

Ausführung der Wasserbestimmung: Es werden zweckmäßig 100 bis 200 mg Seife, bei Seife mit höherem Gehalt an Wasser auch weniger, auf der Mikrowaage eingewogen und in einem kleinen Reibschälchen mit dem gleichen Volumen Seesand innigst verrieben. Die so pulvrig gewordene Seife läßt sich mit Hilfe eines kleinen Pinsels leicht quantitativ in das Spitzröhrchen überführen, das dann an die Acetylen-Entwicklungsapparatur angeschlossen wird. Für weniger genaue Bestimmungen kann das Zerreiben mit Seesand entfallen. Es genügt, feinste Seifenspäne im Spitzröhrchen direkt einzuwägen. Die erhaltenen Werte sind dann allerdings etwa um 2 bis 3 Fehlerprozente zu niedrig. Bei kleinen Einwaagen (10 bis 20 mg) erhält man bei höherem Wassergehalt der Seife auch ohne Zumischung des Sandes richtige Werte. Die Acetylen-

entwicklung dauert etwa 30 Minuten; nach weiteren 10 Minuten zur Auskühlung der Apparatur kann der Stand der Quecksilbersäule abgelesen werden. Bezüglich der übrigen Einzelheiten verweisen wir auf die obengenannte Veröffentlichung.

In Tab. 4 sind die Werte einiger Bestimmungen im Vergleich zur Mikro-Trockenschrankmethode gesetzt. Wie zu erwarten war, sind die Werte der Karbidmethode etwas niedriger, da hier flüchtige Stoffe nicht als „Wasser" mit erfaßt werden.

V. Bestimmung des Kochsalzgehaltes.

Die Ermittlung des Kochsalzes über den Chlorionengehalt der Seife wird bekanntlich nach *Mohr* mit Silbernitrat und Kaliumchromat als Indikator oder nach *Volhard* durchgeführt. Mikroanalytisch läßt sich die Titration nach *Mohr* kaum mit der gewünschten Genauigkeit durchführen, da die Verfärbung am Äquivalenzpunkt durch überschüssiges Silberchromat schwer erkannt werden kann, die Werte daher meist zu hoch ausfallen, selbst dann, wenn durch eine Blindprobe der Überschuß an Silbernitrat festgestellt und bei der Berechnung berücksichtigt wird.

Für einen anderen Zweck wurde von uns[4] eine Mikromethode in der Ausführungsform nach *Volhard* ausgearbeitet, die diese Nachteile nicht besitzt und sich auch für die Kochsalzbestimmung in Seifen eignet.

Von den verschiedenen Möglichkeiten[5] zur Bestimmung des Chlorgehaltes geben wir der Veraschung wegen ihrer Einfachheit und raschen Durchführbarkeit bei kleinen Einwaagen den Vorzug. Bei entsprechend vorsichtiger Veraschung, die in wenigen Minuten erzielt werden kann, sind hierbei Chlorverluste nicht zu befürchten.

Ausführung der Bestimmung: 10 bis 20 mg Seife werden in einem Mikroporzellantiegel eingewogen (Firma Haldenwanger, Berlin, weite Form) und am Mikrotondreieck über einer Mikroflamme vorsichtig verascht, bis die Asche nur mehr grau gefärbt ist. Nach dem Erkalten gibt man 1 ml kaltes Wasser hinzu und löst sie darin unter Umrühren mit einem Mikroglasstab. Die Lösung wird nun an der Filtrierpipette (Kopf 3 mm) filtriert und mit wenigen Tropfen dest. Wassers aus der Spritzflasche zur quantitativen Überführung nachgewaschen. Filtrat samt Waschwässern werden aus der Pipette in ein Porzellanschälchen (3 bis 4 cm Durchmesser) abgeblasen und die Pipette kurz nachgewaschen. Die so erhaltene Aschenlösung dampft man am Asbestdrahtnetz über kleiner Flamme auf etwa 1 ml ein. Nach dem Erkalten säuert man mit etwa 0,3 ml chlorfreier konz. Salpetersäure an, versetzt aus der Mikrobürette mit einem Überschuß von $^n/_{10}$ Silbernitrat (50 bis 100 μl) und einer Spur Eisenammoniumsulfat als Indikator. Schließlich titriert man aus einer zweiten Mikrobürette mit $^n/_{10}$ Rhodanammoniumlösung

zurück. Die Titration ist sehr genau durchzuführen, da schon die geringste Spur eines Überschusses an Rhodanammon an der dunkelbraunen Verfärbung erkennbar ist. Der Umschlagspunkt ist so scharf, daß bei sehr kleinem Kochsalzgehalt noch mit $^n/_{50}$ Maßlösungen gearbeitet werden kann.

In Tab. 5 sind Einzelbestimmungen an Kern- und Rasierseife mit den makroanalytisch ermittelten Werten in Vergleich gesetzt.

Tabelle 5. Kochsalzbestimmung in Seifen.

Seife	Einwaagen mg	Kochsalzgehalt			Mittel der Mikrowerte	Makrowerte
Kernseife ..	20	0,238	0,257 0,290	0,288	0,269	0,26
Rasierseife .	20	0,452		0,468	0,460	0,46

VI. Bestimmung der Füllstoffe.

Für diese Bestimmung hat sich der Mikroextraktor nach *Gorbach* bewährt (vgl. I. Mitt. d. Reihe), in dem 100 mg Seife innerhalb von 30 Minuten mit absolutem Alkohol quantitativ extrahiert werden können (Tabelle 6).

Tabelle 6.

Extraktionsdauer Minuten	Seifenextrakt	Füllstoff
30	17,38%	79,50%
60	17,40%	79,46%
120	17,43%	79,40%

Ausführung der Bestimmung: 100 mg Seifenspäne werden auf der Torsionswaage von Hartmann & Braun oder der mikrochemischen Waage im Extraktionsschälchen eingewogen und, mit einem Aluminiumdeckel versehen (vgl. II. Mitt.), im Mikro vakuumexsikkator zwei Stunden bei 60° getrocknet und gewogen. Die Gewichtsdifferenz ergibt den Wassergehalt. Hierauf bringt man das Extraktionsschälchen auf die Filterfläche des Extraktors, stellt ein gewogenes Extraktionskölbchen unter den Filtertrichter und verschließt unter Einbringen von 2 ml absolutem Alkohol mit der Schliffeprouvette. Mittels des elektrischen Heizkörpers wird dann der Alkohol zum Sieden erhitzt und die Extraktion in Gang gebracht. Den alkoholischen Extrakt im Extraktionskölbchen trocknet man bei 60° im Mikrovakuumexsikkator bis zur Gewichtskonstanz. Zur Kontrolle des Ergebnisses kann man auch den extrahierten Füllstoff im Extraktionsschälchen nach kurzer Trocknung bei 105° wägen.

Der Seifenextrakt im Extraktionskölbchen kann hierauf nach den vorangestellten Methoden weiterhin untersucht werden. Die Tab. 7 gibt einige an Kriegsseifen erzielte Werte wieder.

Tabelle 7. Mikrochemische Bestimmungen des Füllstoffes in Seifen.

Seife	Einwaagen mg	Seifenextrakt		Mittelwert
RIF I	100	19,22	19,30	19,26
RIF II	100	14,28	14,94	14,88
RIF III	100	17,32	17,44	17,3

Für die Mitarbeit habe ich Herrn *A. Mischeff* zu danken.

Literatur.

[1] *G. Gorbach* u. Mitarbeiter, Fette u. Seifen I, **47**, 499 (1940); II. **49**, 553 (1942); III, **49**, 625 (1942); IV, **51**, 6 (1944); V, **51**, 33 (1944); VI, **51**, 93 (1944); VII, **51**, 94 (1944); VIII, **51**, 129 (1944); IX, **51**, 171 (1944); X, Mikrochem. **33**, 145 (1946); XI, Mikrochem. **30**, 365 (1948).

[2] Siehe III. Mitt.

[3] *F. P. Treadwell*, Analytische Chemie, 2. Band (1923).

[4] Unveröffentl. Dissertation *Steffan*, Graz 1944.

[5] Vgl. hierzu *H. P. Kaufmann*, Fette u. Seifen **48**, 682 (1941).

Queens College of the City of New York, Flushing, N. Y.

Mikrogrammverfahren.

Von

A. A. Benedetti-Pichler.

Mit 4 Abbildungen.

(Eingelangt am 15. April 1948.)

Im folgenden soll eine Übersicht über die Erfahrungen gegeben werden, die der Verfasser und seine Mitarbeiter bei der Ausarbeitung von Methoden für das Arbeiten mit Stoffmengen von etwa 1 bis 0,001 Mikrogrammen gewonnen haben. Im allgemeinen kann die Besprechung auf die wesentlichen Arbeitsprinzipien beschränkt werden, da die Einzelheiten aus der Literatur zu entnehmen sind.

Die Milligrammverfahren für qualitative und quantitative anorganische Analyse wurden von *Emich* und seinen Mitarbeitern ausgebildet. *Emich* ging darüber hinaus und beschäftigte sich seit etwa 1912 mit der Entwicklung von Methoden für die Ausführung von gravimetrischen[1] und titrimetrischen[2] Bestimmungen mit Stoffmengen von einigen Mikrogrammen. Die Ausbildung von Verfahren für die systematische qualitative Analyse von Mikrogrammengen, eine logische Fortsetzung von *Emich*s Arbeitsprogramm, mag weniger anziehend gewesen sein, da *Emich* mit den Verfahren für das Arbeiten im „ausgezogenen Röhrchen"[3] und am Ende von Textilfasern[4] Methoden geschaffen hatte, die gegebenenfalls das Arbeiten mit sehr kleinen Stoffmengen erlauben sollten. Der Siegeszug der Milligrammverfahren für die organische Elementaranalyse trug ferner dazu bei, die Entwicklung von Milligrammethoden für quantitative Bestimmungen an anorganischen Stoffen während der Zwanzigerjahre besonders anziehend erscheinen zu lassen.

Der Verfasser hat eine große Zahl von Studenten in die Milligrammverfahren der qualitativen Analyse eingeführt und hat die Überzeugung noch nicht aufgegeben, daß derartige Kurse für die Ausbildung experimenteller Geschicklichkeit und für die Entwicklung der Fähigkeit des Erkennens gesunder Proportionen bei experimentellen Arbeiten außer-

ordentlich nützlich sind. Erfahrung hat jedoch gleichzeitig die Erkenntnis entwickelt, daß diese Milligrammverfahren sehr selten für die Lösung praktischer Probleme benötigt werden. Wenn eine qualitative anorganische Mikroanalyse benötigt wird, ist die Substanzmenge in der Regel so klein, daß die Lösung des Problems wesentlich von Erfindungskraft und Geschicklichkeit des Mikrochemikers abhängt. *Emich* selbst hat zur Lösung einer derartigen Aufgabe das Arbeiten im ausgezogenen Röhrchen ausgebildet.[5] Der Schreiber dieser Zeilen mußte bei einer solchen Gelegenheit einen Aufschluß in der Boraxperle ausarbeiten, um Eisen in Spuren eines Pigmentes nachweisen zu können. Die qualitative Analyse der Asche eines aus einem Auge entfernten „Kristalles" von 0,3 mg Gewicht konnte eben gerade noch im Zentrifugierröhrchen ausgeführt werden. Es ist anzunehmen, daß viele Fachgenossen ähnliche Erfahrungen gemacht haben.

Am Washington Square College der New York University hatte der Verfasser Gelegenheit, die mikrurgischen Methoden von *Robert Chambers* vorgeführt zu sehen. Vorführungen des Abschätzens und der Injektion von Tröpfchen von 1 Kubikmicron (= 10^{-9} cmm) Volumen konnten nicht verfehlen, den Wunsch nach einem Versuch zur Verfeinerung mikrochemischer Arbeitsmethoden zu erwecken, um wenigstens einen Teil der Kluft zu überbrücken, die zwischen den Anforderungen der Zellforscher und der Empfindlichkeit mikrochemischer Methoden klafft. Die erforderlichen Manipulatoren wurden angeschafft, und die Mitarbeiter von Prof. *Chambers*, Dr. *C. G. Grand* und Dr. *M. J. Kopac*, sparten keine Mühe, uns in die Kunstgriffe ihrer Arbeitsweise einzuweihen.

Ein gutes Geschick brachte mir zu dieser Zeit Dr. *Roswell S. Britton* mit einem Ansuchen um die Identifizierung der Pigmente in eingeschnittenen Zeichen an chinesischen Orakelknochen aus der Shang-Epoche (1766 bis 1122 vor Christi).[6] Der Vorfall verstärkte die Erkenntnis, daß die Entwicklung von Verfahren für die systematische Untersuchung von Mikrogrammengen einem praktischen Zweck dienen würde und führte mithin zur Aufstellung eines scharf umrissenen Arbeitsprogrammes: Eine Arbeitsmethode sollte entwickelt werden, welche die systematische qualitative Analyse einer Probe von 1 γ Gewicht so ermöglichen würde, daß Bestandteile, die 1% der Probe ausmachen, so sicher nachgewiesen werden können, daß noch eine Möglichkeit der ungefähren Schätzung ihrer Menge besteht. Die Ausführung von Kristallfällungen sollte für die sichere Identifizierung möglich gemacht werden.

Da das chemische Gleichgewicht durch die Konzentration der Reaktionspartner bestimmt ist, wurde beschlossen, einen gründlich erprobten Gang der Makroanalyse so auf den Mikrogrammaßstab zu übertragen, daß die Konzentrationen unverändert bleiben. Es war dann mit Recht anzunehmen, daß die Erfahrungen, die mit großen Mengen ge-

sammelt worden sind, ohne wesentliche Änderungen im kleinen Maßstab gelten. Es folgt daraus natürlich, daß die Volumina aller Lösungen im gleichen Maße als das Gewicht der Probe verkleinert werden müssen. Dazu ergibt sich die Notwendigkeit, alle Lösungsmengen mit hinreichender Genauigkeit messen zu können.

Der Analysengang von *Swift*[7] wurde schließlich zur Übertragung auf den kleinen Maßstab deshalb ausgewählt, weil er besonderes Augenmerk auf die Ausführung quantitativer Trennungen und die ungefähre Bestimmung der isolierten Bestandteile legt. Außerdem erschien dieser Analysengang besonders anziehend, da er außer den üblichen Operationen, wie Lösen, Erhitzen, Verdampfen, Fällen, Mischen, Filtrieren, Sättigen mit Schwefelwasserstoff, auch noch eine Destillation benötigt.

Swift geht von 1 g fester Probe aus. Für das Arbeiten mit einer Probe von 1 γ Gewicht war es daher nötig, auch die Volumina der Reagentien bei Beihaltung ihrer Konzentrationen auf ein Millionstel zu verkleinern. Dementsprechend würde die Lösung während der Fällung mit Schwefelwasserstoff ein Volumen von 110 mλ = 0,11 λ = 0,11 cmm haben müssen, und wenn immer die Anweisung von *Swift* Zugabe von 1 ml eines Reagens vorschreibt, würde es nötig sein, 1 mλ = 0,001 cmm desselben zuzusetzen. Auch die Gewichte der festen Reagenzien sowie der Niederschläge würden am besten in mγ = 0,001 γ ausgedrückt werden. Damit waren die Größenverhältnisse der Apparate gegeben. Außerdem war es selbstverständlich, daß das Handhaben der Stoffe an die Sehkraft und die Geschicklichkeit der Hände zu große Anforderungen stellen würde, um eine sichere Durchführung einer langen Kette von Operationen zu gestatten. Die berechneten Ausmaße ließen eine 15- bis 30fache Mikroskopvergrößerung und Benutzung des einfachen Manipulators von *Chambers* aussichtsreich erscheinen.

Es mag hier eingestanden werden, daß diese sich notwendigerweise ergebenden Verhältnisse dem Beginn dieser Untersuchungen einen besonderen Reiz verliehen haben. Die Sinne würden nur mehr indirekt mit dem Objekt in Berührung kommen, das in gewisser Hinsicht bereits dem Reich des Greifbaren entrückt ist, und in das Laboratorium des Chemikers würde sich ein Hauch von der Atmosphäre aus der Warte des Astronomen verirren, der seine Objekte auch nur mit Hilfe seines Scharfsinnes und durch Vermittlung von Werkzeugen, die wiederum ein Produkt menschlichen Geistes sind, studieren kann. Und tatsächlich drängt sich im Rückblick die Vermutung auf, daß die Schranke zwischen Hand und Objekt dazu beitragen mag, eine mehr besonnene und philosophische Einstellung des Experimentators zu erwecken.

Eine Entscheidung betreffend die Form des Arbeitsgerätes führte fast zwangsläufig zur Festlegung aller anderen Einzelheiten, und diese Entscheidung bot keine großen Schwierigkeiten. Die Benutzung der

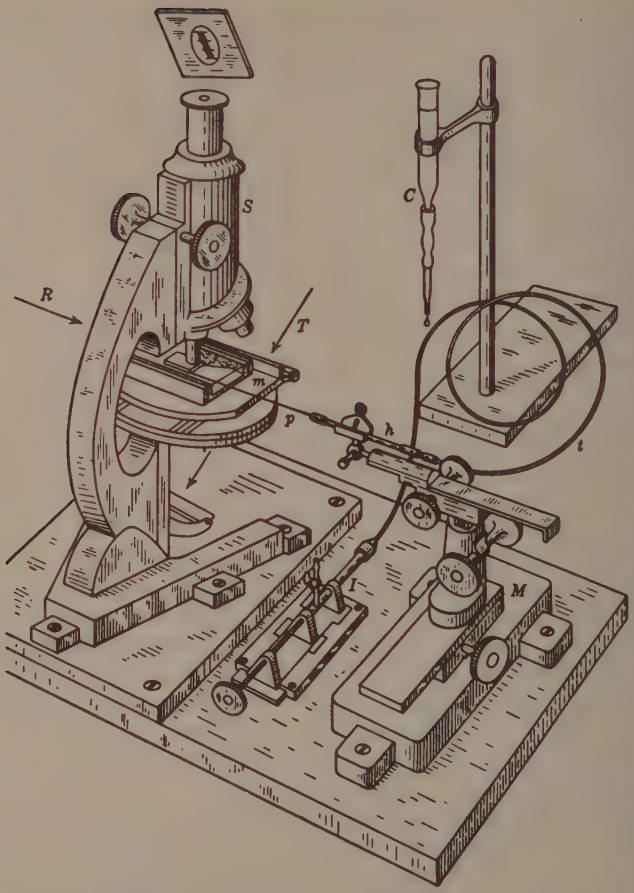


Abb. 1. Arbeiten im Kapillarkonus.* Mikroskop mit mechanischer Objektivführung *m* und feuchter Kammer, *Chambers* einfacher Manipulator *M*, Druckkammer *I* durch biegsames Rohr *t* mit Pipettenhalter *h* und Mikropipette *p* verbunden; *C* enthält destilliertes Wasser für das Auswaschen der Mikropipetten.

Zentrifuge für die Trennung der festen und flüssigen Phasen hatte sich bereits beim Arbeiten mit Milligrammen einfacher erwiesen als Filtrierverfahren. Die zunächstliegende Idee einer Verfeinerung des Arbeitens im ausgezogenen Röhrchen, erwies sich sogleich als unpraktisch. Falls eine 7,5 cm lange Kapillare einen Rauminhalt von nicht mehr als etwa

* Wiedergabe aus „Introduction to the Microtechnique of Inorganic Analysis" von *A. A. Benedetti-Pichler* mit Erlaubnis des Verlages John Wiley & Sons, Inc., New-York.

0,5 cmm haben soll, muß sie einen inneren Durchmesser von 0,1 mm erhalten und die Innenfläche, auf der sich Lösungen und Niederschläge ausbreiten können, wird etwa 24 qmm betragen. Pipetten zum Abheben von Flüssigkeiten müßten mit sehr langen feinen Spitzen versehen sein, die eine Reihe von Übelständen mit sich bringen würden. Es schien viel praktischer, der Kapillare 0,6 mm inneren Durchmesser und 2 mm Länge zu geben, und dies führt bei gleichem Rauminhalt zu einer Innenfläche von nur etwa 4 qmm. Ein Behälter von diesen Ausmaßen findet auch zur Gänze Raum in dem Gesichtsfelde eines schwachen Mikroskopobjektivs, so daß man alle Vorgänge in seinem Inneren gleichzeitig beobachten kann. Wenn man ferner beabsichtigt, Niederschläge mit Hilfe der Zentrifuge zu sammeln, so ist es selbstverständlich, dem Gefäß eine konische Form zu geben. Es wurde daher beschlossen, in einem Miniaturzentrifugierröhrchen zu arbeiten, das in Hinkunft Kapillarkonus genannt werden soll, und das Milligrammverfahren für das Arbeiten in Spitzröhrchen soweit als möglich beizubehalten.

Die allgemeine Anordnung für die Manipulation unter dem Mikroskop kann aus Abb. 1 entnommen werden. Mikroskop, Manipulator und Druckregulator *I* sind so auf einer gemeinsamen Unterlage befestigt, daß sie nicht verschoben werden können. Ein großes Mikroskopstativ ist vorzuziehen, das großen Spielraum für den Drehtisch mit eingebauter mechanischer Feinverstellung erlaubt. Eine Vorrichtung für rasches Auswechseln von Objektiven mit den Vergrößerungen 3×, 5×, 10× und 20× ist wünschenswert. Ein 5× Mikrometerokular vervollständigt die Ausrüstung. Die Mikrometerskala soll leicht ablesbar sein und sich über wenigstens zwei Drittel des Durchmessers des Gesichtsfeldes erstrecken. Der mechanische Tisch muß eine Horizontalverstellung von wenigstens 6 cm, besser 9 cm, in der Sagittalebene des Mikroskops erlauben.

Wenn eine Mikroskopierlampe von genügender Stärke verwendet wird, so kann man leicht ein Projektionsbild von 15 bis 30 cm Durchmesser auf einem Bogen Zeichenpapier erhalten, der am Grunde eines geschwärzten Holztrichters aufgezogen wird. Die Beobachtung des Projektionsbildes erleichtert die Arbeit wesentlich. Messungen können einfach mit einem Maßstab auf der Projektionsfläche ausgeführt werden. Eine zweite Mikroskopierlampe, die Licht in der Richtung *R* auf das Objekt sendet, ist zur Beobachtung der Farbe der Niederschläge im Auflicht unerläßlich.

Auf dem mechanischen Tisch des Mikroskops ist eine Glaskammer aufgesetzt, in der die chemischen Arbeiten durchgeführt werden. Die Seite der Kammer, welche dem Manipulator gegenüberliegt, ist offen, so daß die Mikropipette, die das Übertragen von Flüssigkeiten besorgt, genügend Bewegungsfreiheit hat. Die Mikropipette *p* ist in den Pipettenhalter *h* luftdicht eingesetzt und dieser ist durch ein biegsames Rohr *t*

(aus Kupfer, steifem Gummischlauch oder Schlauch aus geeignetem plastischem Material) mit der Druckkammer *I* verbunden. Der Pipettenhalter ist in die Klammer des Manipulators eingespannt, der nicht nur Bewegung durch feinen Zahntrieb in den drei Richtungen des Raumes erlaubt, sondern auch ein Schwenken bei Hand um die Achse der vertikalen Säule des Manipulators. Diese letztere Bewegung wird benutzt, um die Pipettenspitze zwecks Reinigung in den hängenden Tropfen an

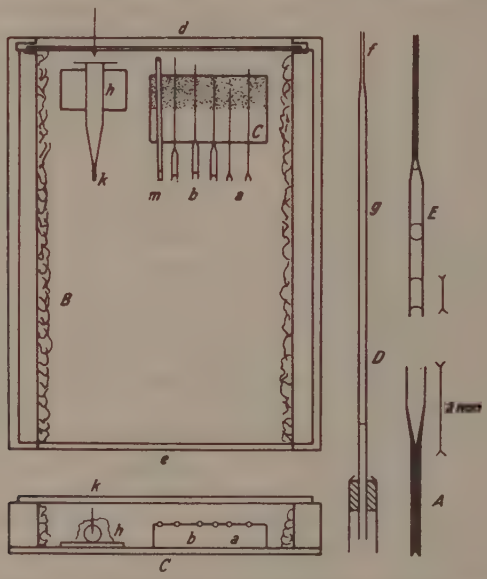


Abb. 2. Kapillarkonus *A*, Feuchte Kammer *B*, *C*, Mikropipette *D* und Reagenskapillare *E*.

der Spitze der „Bürette" *C* zu bringen. Der Manipulator, der von der Firma Leitz hergestellt wurde, erweist sich im mikrochemischen Laboratorium sehr allgemein verwendbar und erlaubt die Durchführung von Manipulationen im mikroskopischen Felde mit Vergrößerungen bis zu 200 ×. Leitz lieferte ferner etwa 12 cm lange Hebelarme, die auf die Triebscheiben aufgesetzt werden können. Die dadurch erhaltene feinere Kontrolle der Zahnradbewegungen gestattet die Verwendung des Manipulators mit Vergrößerungen bis zu 500 ×.

Die Ausmaße des Kapillarkonus können aus der Abb. 2*A* entnommen werden. Ein Vorrat davon wird aus einer Kapillare von etwa 0,5 mm gleichförmigem innerem Durchmesser so ausgezogen, daß jeder Konus einen 3—4 cm langen, kräftigen Glasstiel erhält. Es muß dabei darauf geachtet werden, daß der konische Innenraum nicht in eine lang aus-

gezogene feine Spitze übergeht. Auch die Reagenskapillaren *E* und *Bb* werden in ähnlicher Weise hergestellt. Ihr innerer Durchmesser wird unter dem Mikroskop gemessen[8] und Reagenskapillaren von gleichem Lumen werden, in Pulverröhrchen gesammelt, zur Verwendung bereitgehalten.

Zu Beginn des Versuches werden Reagenskapillaren mit Hilfe von Kapillarpipetten[9] mit den benötigten Reagenslösungen, Waschflüssigkeiten und (wenn nötig) destilliertem Wasser gefüllt und zusammen mit den Kapillarkoni auf dem Kapillarenträger systematisch angeordnet, wie es Abb. 2*B* zeigt. Der Träger *c* besteht aus einem rechteckigen Stück (etwa 2 × 3 cm), das aus einer etwa 3 mm dicken Spiegelglasplatte herausgeschnitten wird. Die eine Hälfte der Oberseite wird mit einer 1 mm dicken Lage von Vaseline versehen, in die die Stiele der Kapillaren eingebettet werden. Die Reihenfolge der Kapillaren und ihres Inhaltes wird am besten auf einer Skizze vermerkt, um Verwechslungen vorzubeugen.

Die Deckplatte der Kammer *B* wird abgehoben und der Träger mit den Kapillaren wird in die Kammer eingelegt, wie aus der Abbildung zu ersehen ist. Um ein Herumgleiten des Trägers auf der Grundplatte zu verhindern, wird ein kleiner Wassertropfen oder eine Spur eines schweren Mineralöls zwischen die beiden Glasflächen gebracht. Nach Wiederauflegen der Deckplatte wird die Kammer auf den Tisch des Mikroskops gebracht und die Grundplatte so in die Objektführung eingesetzt, daß die offene Seite *e* der Kammer dem Manipulator zugewendet ist.

Die Mikropipette (Abb. 2*D*) wurde von den Biologen übernommen. Der 10 bis 15 cm lange Schaft *g* besteht aus einer Kapillare von etwa 0,5 mm äußerem Durchmesser, der in die Dichtung des Kapillarenhalters (Abb. 1*h*) paßt. Die eigentliche Mikropipette (Abb. 2*Df*) wird am besten mit Hilfe einer mechanischen Vorrichtung ausgezogen. Apparate von verschiedener Konstruktion sind im Handel erhältlich, doch hat die von *Rachele* ersonnene Vorrichtung den Vorteil, Pipetten mit offenen Spitzen (von 0,5 bis 1 μ Durchmesser der Öffnung) zu geben. Die Bezeichnung Mikropipette bezieht sich nur auf den ausgezogenen Teil am Ende des Schaftes. Ihre Form kann durch die Einstellung des Apparates nach Wunsch geändert werden. Für chemische Arbeit eignen sich am besten Mikropipetten, die rasch in eine etwa 1 cm lange feine Spitze auslaufen. Das äußerste Ende der Spitze wird mit einer Pinzette abgebrochen, um eine Öffnung von 10 bis 20 μ Durchmesser zu erhalten.

Das Prinzip der Arbeitsweise mit der Mikropipette kann aus Abb. 3*I* entnommen werden. *A* stellt den Schaft mit der Pipette dar; *B* ist der Pipettenhalter, *C* das biegsame Verbindungsrohr, *D* die Druckkammer und *E* der Stempel, der mit Hilfe eines feinen Schraubengewindes betätigt wird. Die Flüssigkeit in der Pipette ist durch eine lange Luftblase, die etwa drei Viertel der Länge des Schaftes einnimmt, von der Druckflüssig-

keit, die *B*, *C* und *D* vollkommen anfüllt, getrennt. Als Druckflüssigkeit hatte sich ausgekochtes destilliertes Wasser bereits den Biologen am vorteilhaftesten erwiesen. Das zweckmäßige Funktionieren der Mikropipette ist durch die Elastizität der Luftblase *c* und die Oberflächenkräfte an den Menisken *a* und *b* bestimmt. Die Größe und Richtung der Oberflächenkraft ist durch die Kurvatur des Meniskus bestimmt. Sie ist Null, wenn der Meniskus eine ebene Fläche ist, und sie erreicht ein Maximum, wenn der Radius der Kurvatur gleich dem Radius des Lumens des Rohres wird. An der Öffnung einer Mikropipette (10 μ Durchmesser) kann die Kapillarkraft mit wäßrigen Lösungen einem Druck von $2\,\gamma/\mathrm{gr} = 300$ cm Wassersäule das Gleichgewicht halten. Die Oberflächenkraft am

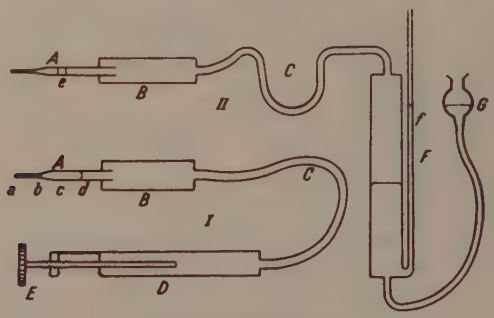


Abb. 3. Mikropipette.

Meniskus *b* wird zwischen diesem Werte und dem für Menisci im Schaft (0,4 mm Lumen) geltenden Wert (7,5 cm Wassersäule) liegen. Wenn in der Luftblase *c* atmosphärischer Druck herrscht, ist der Meniskus an der Öffnung der Pipettenspitze konkav und die Oberflächenkräfte werden selbst bei einigem Unterdruck in der Luftblase imstande sein, die Flüssigkeit in der Pipettenspitze zu halten. Wird jedoch ein Druck auf die Luftblase ausgeübt, so wird der Meniskus an der Pipettenöffnung konvex und kann dann das Ausfließen der Flüssigkeit verhindern bis ein Überdruck von mehr als 0,15 bis 0,3 Atmosphären erreicht ist. Dies gilt natürlich nur für den Fall, daß sich der Meniskus ungestört ausbilden kann und die Flüssigkeit keine Brücke zu einer benetzbaren Oberfläche findet.

Das Abmessen einer Flüssigkeitsmenge in der Reagenskapillare und ihre Übertragung in einen Kapillarkonus ist nun ziemlich einfach. Da der Durchmesser des Lumens der Reagenskapillare bekannt ist, läßt sich die Länge der Flüssigkeitssäule, die das gewünschte Volumen besitzt, ohneweiters berechnen und in Teilstrichen des Okularmikrometers ausdrücken. Die gewählte Reagenskapillare wird mit Hilfe der mechanischen Führung des Tisches ins Gesichtsfeld gebracht und das Mikroskop scharf

auf den Meniskus der Flüssigkeit oder die Spitze des konischen Lumens eingestellt. Mit Hilfe des Manipulators wird dann die Spitze der Mikropipette so nahe an die Öffnung der Reagenskapillare herangebracht, als dies bei Beobachtung mit unbewaffnetem Auge möglich ist. Dann blickt man in das Mikroskop, dessen Einstellung auf die Achse der Reagenskapillare unverändert beibehalten werden muß. Die Spitze der Mikropipette wird durch Heben oder Senken mit Hilfe des Manipulators zur scharfen Abbildung und damit auch in die Horizontalebene gebracht, in der die Achse der Reagenskapillare liegt. Falls notwendig, wird der Mikroskoptisch gedreht, um die Achsen der Kapillare und der Pipettenspitze parallel zu legen. Die Horizontalbewegungen des Manipulators oder der Objektführung des Drehtisches können für alle folgenden Manipulationen je nach Belieben verwendet werden. Erst wird die Pipettenspitze in die Achse der Kapillare gebracht. Die Luft im Schaft der Mikropipette wird durch Vortreiben des Stempels leicht zusammengedrückt und dann wird die Spitze der Pipette in die Flüssigkeit eingetaucht. Einige Erfahrung lehrt die Größe der Stempelbewegung, die das augenblickliche Eindringen größerer Flüssigkeitsmengen in die Mikropipette eben verhindert. Ein schneller Druckausgleich nach dem Vorbewegen des Stempels ist nicht zu befürchten, da die Ausströmungsgeschwindigkeit wegen der feinen Pipettenspitze zu gering ist.

Zur Aufnahme der Flüssigkeit in die Pipette wird der Druck in der Luftblase des Schaftes verringert, bis sich der Meniskus in der Reagenskapillare langsam zu bewegen beginnt. Wenn dieser Meniskus die vorherberechnete Distanz auf der Mikrometerteilung zurückgelegt hat, wird das Einfließen der Flüssigkeit in die Pipette durch eine Bewegung des Stempels zum Stillstand gebracht, oder die Pipettenspitze in dem Augenblick aus der Flüssigkeit herausgezogen, in dem der Meniskus den vorherbestimmten Skalenteil der Mikrometerteilung erreicht.

Enge Reagenskapillaren eignen sich natürlich besser für das Abmessen sehr kleiner Flüssigkeitsmengen und können auch zum Kalibrieren der Pipettenspitze benutzt werden. Nach Aufnahme eines bekannten kleinen Volumens in die Pipette mißt man einfach mit der Okularteilung den Abstand des Meniskus in der Pipette von der Öffnung derselben. Man darf aber nicht vergessen, daß alle diese Messungen mit Fehlern behaftet sind, da auch bei sehr langsamer Bewegung noch ein beträchtlicher Anteil der Flüssigkeit an den Wänden der Kapillaren zurückbleibt. Es wäre jedoch möglich, eine Korrektur anzubringen, da es bekannt ist, daß ungefähr 12%, 13%, 20% und 25% Wasser an der Wand von Glaskapillaren zurückgehalten werden, wenn sehr langsam entleerte Kapillaren Lumen von den Durchmessern 0,12 mm, 0,14 mm, 0,16 mm und 0,22 mm haben.[10] Mit weiteren Kapillaren wird das Verhältnis wieder günstiger.

Zur Übertragung in den Kapillarkonus wird die Spitze der Mikropipette an die Glasoberfläche nahe der Spitze des Kapillarkonus angesetzt und der Stempel bewegt, so daß die Flüssigkeit langsam aus der Pipette ausfließt. Wenn der Meniskus in der Pipettenspitze im mikroskopischen Bild erscheint, wird die Bewegung sogleich mit Hilfe des Stempels verlangsamt, so daß man schließlich leicht imstande ist, diesen Meniskus nahe der Öffnung der Pipette zum Stillstehen zu bringen. Im Falle eines Reagenszusatzes kann die Pipettenspitze nun als Rührer verwendet werden, indem man sie in der Flüssigkeit zum Vibrieren bringt, was durch einen geeigneten Kunstgriff, wie Aufsetzen einer schwingenden Stimmgabel auf einen geeigneten Teil des Manipulators hervorgerufen werden kann. Man könnte zum Zwecke des Mischens Luftbläschen aus der Öffnung der Pipette austreten lassen, doch hat dies zur Folge, daß Teilchen der Flüssigkeit (und eines darin sich bildenden Niederschlages) beim Platzen der Bläschen an der Oberfläche der Flüssigkeit verstäubt werden.

Die beschriebene Arbeitsweise wurde zuerst absichtlich an einem sehr einfachen Versuch erprobt. Silberchlorid wurde durch Zusatz von 3 mλ 3-molarer Salzsäure zu 10 mλ 1%iger Silbernitratlösung gefällt. Zuerst zeigte sich, daß das Abmessen von Lösungen doch nicht so einfach ist, da die Menisken immerfort wandern. Die Silbernitratlösung wurde zuerst abgemessen und die Mikropipette gewaschen. Wenn die Pipette hierauf mit der abgemessenen Salzsäure in den Kapillarkonus eingeführt wurde, stellte sich heraus, daß die Silbernitratlösung verschwunden war. Die Tröpfchen verdunsteten so rasch, daß es unmöglich war, schnell genug zu arbeiten. Das Problem des Eindampfens von Lösungen war damit bereits gelöst; es genügt, den Kapillarkonus für ein paar Minuten in eine trockene Atmosphäre zu bringen. Kurzer Aufenthalt in einem Trockenschrank wird das übrige tun, falls der Rückstand hygroskopisch ist.

Wie unerwünschtes Verdunsten verhindert wird, war uns von der Arbeitsweise der Mikrobiologen bekannt. Die Seiten der Kammer wurden mit Baumwolle ausgelegt, die ständig naß gehalten wurde. Das oben erwähnte Experiment wurde nun mit scheinbarem Erfolg durchgeführt, doch konnte der Niederschlag von Silberchlorid weder vor noch nach dem Zentrifugieren im Kapillarkonus aufgefunden werden. Diese Erfahrung verursachte einiges Kopfzerbrechen, klärte sich aber schließlich in sehr einfacher Weise auf.

Bei der Herstellung der Kapillarkoni war keine besondere Vorsicht geübt worden, und sie waren demzufolge mit den Veraschungsrückständen von Fingerabdrücken bedeckt. In der feuchten Kammer zerfloß jedes Salzkriställchen, und die Oberfläche des Kapillarkonus war derart mit einem Muster von Tröpfchen überzogen, daß es unmöglich wurde, Niederschlagsteilchen im Inneren mit dem Mikroskop sichtbar zu machen. Ein neuer Vorrat von Kapillarkoni wurde unter Benutzung von Hand-

schuhen aus sorgfältig gereinigten Glasröhren ausgezogen und „unsichtbare Niederschläge haben sich seither unserer Beobachtung entzogen".

Zum Zentrifugieren, Erwärmen oder Behandeln mit Gasen wird der Kapillarkonus aus der feuchten Kammer herausgenommen und in eine Kapillare so eingeschlossen, daß ein Verdunsten der darin enthaltenen Lösung nach Möglichkeit verhindert wird. Zum Zwecke des Zentrifugierens genügt es, den Konus in eine beiderseits offene Kapillare von etwa 8 cm Länge einzuführen, die dann ihrerseits in ein Spitzröhrchen eingeführt wird. Selbst starke elektrische Zentrifugen können für das Schleudern ohne Gefahr für den Kapillarkonus verwendet werden.

Zum Erhitzen wird die Kapillare, die den Konus enthält, nach Einbringen eines kleinen Wassertröpfchens an beiden Seiten zugeschmolzen und dann in ein Wasserbad der gewünschten Temperatur eingelegt. Kurzes Verweilen in einem Bad von etwa 80° C hat in der Regel die gewünschte Wirkung. Soll die Lösung in dem Kapillarkonus mit einem Gas behandelt werden, so füllt man die Kapillare nach Einführung des Konus mit dem gewünschten Gas an, worauf beide Enden zugeschmolzen werden. Eine Kapillare von 30 bis 50 λ Inhalt enthält auf diese Weise weitaus mehr Schwefelwasserstoff als zur Fällung von 1 γ irgend eines Metalles erforderlich sein könnte (etwa 1 λ unter Normalbedingungen). Wird die gefüllte Kapillare dann noch in ein Bad von etwa 80° C eingelegt, so kann man die Koagulierung des Niederschlages in der Regel in wenigen Minuten wahrnehmen. Das Zentrifugieren wird am besten nach Öffnen der Kapillare vorgenommen. Zufolge der Linsenwirkung der Röhrchen sind Niederschläge von etwa 0,01 γ Gewicht noch deutlich mit unbewaffnetem Auge wahrzunehmen.

Zur Schätzung der Menge der Niederschläge und zur Weiterbehandlung wird der Kapillarkonus wieder in die feuchte Kammer zurückgebracht. Zur ungefähren Schätzung der Menge genügt es, die Ausmaße des Querschnittes des konischen Niederschlagklumpens mit dem Okularmikrometer zu bestimmen. Wenn mit Projektion gearbeitet wird, kann man die Umrisse des Niederschlages auf einem Stück Karton nachzeichnen und die Fläche nach Ausschneiden durch Auswägen bestimmen. In allen Fällen ist man natürlich gezwungen, die Mengenschätzung mit Bezug auf Daten durchzuführen, die man bei Ausmessung von unter denselben Bedingungen hergestellten Niederschlägen von bekanntem Gewicht erhält.

Zur Trennung von Lösung und Niederschlag wird die klare Lösung mit Hilfe der Mikropipette entfernt. Gemessene Mengen von Waschflüssigkeit werden mit der Mikropipette zugesetzt und der Niederschlag aufgerührt. Nach erfolgtem Zentrifugieren wird die Waschflüssigkeit wieder in der erwähnten Weise abgesaugt usw.

Zur Durchführung von Destillationen wird ein Vorlegkonus auf den Kapillarenträger gebracht. Dieser Konus wird in derselben Weise wie

ein Kapillarkonus aus einer etwas weiteren Kapillare ausgezogen, doch wird der zylindrische Teil des Lumens etwa 9 mm lang belassen. Der Kapillarkonus mit der zu destillierenden Flüssigkeit wird so in die Öffnung des Vorlegkonus eingeführt, daß die ganze Länge seines Stieles außerhalb des Vorlegkonus bleibt. Ein von *Blacet*[11] augenscheinlich zuerst verwendeter Kunstgriff gibt eine nahezu punktförmige Hitzequelle. Ein Platindraht wird zu einem V gebogen, und an der Spitze des V wird der Durchmesser des Drahtes mittels einer Feile auf ein Drittel verkleinert. Die Spitze des V kann dann durch den elektrischen Strom zum Glühen gebracht werden, ohne daß sich der Rest des Drahtes stark erhitzt. Der Heizdraht erhält eine stabförmige Fassung, die in die Klammer des Manipulators eingespannt wird.

Der Kapillarkonus mit der zu destillierenden Flüssigkeit wird so in das Gesichtsfeld des Mikroskops gebracht, daß der Abstand des Meniskus von der Spitze des Lumens leicht gemessen werden kann. Dann wird der Heizpunkt mit Hilfe des Manipulators von der Seite bis auf etwa 0,5 bis 1 mm an die zu destillierende Flüssigkeit herangebracht und der Strom allmählich eingeschaltet, bis eine langsame Bewegung des Meniskus die allmähliche Verdampfung der Flüssigkeit anzeigt. Zum Kochen darf es natürlich nicht kommen, da dies zu einem Verspritzen der Flüssigkeit führen würde. Falls der Kapillarkonus geeicht wurde, kann man die Destillation unterbrechen, wenn der Rückstand auf ein vorherbestimmtes Volumen eingedampft ist. Das Destillat sammelt sich von selbst in der Spitze des Vorlegkonus an, doch empfiehlt es sich, nach dem Herausziehen des Kapillarkonus mit dem Rückstand aus dem Vorlegkonus mit dem Destillat beide Koni zu zentrifugieren. Fraktionierte Destillation ist ohne weiteres durch Verwendung mehrerer Vorlagen möglich.

Kristallfällungen werden auf einer geeigneten Plattform, d. h. auf der ebenen Bruchfläche eines Glasfadens *k* (Abb. 2*B*) ausgeführt. Der Glasfaden von etwa 0,1 bis 0,3 mm Durchmesser wird aus einem kurzen Stück *h* eines Glasstabes von etwa 5 mm Durchmesser ausgezogen und rechtwinkelig gebogen. Der Faden wird dann durch Eintauchen in heißes Paraffin mit einer dünnen Wachshaut überzogen und hierauf nach Anritzen mit der scharfen Kante eines Porzellanscherbens gebrochen. Auf diese Weise wird eine kreisförmige Plattform von 0,008 bis 0,08 qmm Fläche erhalten, deren Rand wäßrige Lösungen abstößt. Das kurze Stückchen Glasstab (*h*) wird mit Wachs auf einer kleinen Glasplatte so befestigt, daß der Faden *k* lotrecht steht. Auf die glatte Bruchfläche des Stabes wird mit etwas Kanadabalsam ein Stückchen eines Deckglases angeklebt, wozu es nicht nötig ist, das Erhärten des Kanadabalsams durch Erhitzen herbeizuführen. Die Plattform wird wie aus Abb. 2*B* ersichtlich in die feuchte Kammer gebracht, so daß das Licht einer kräftigen Mikroskopierlampe in der Richtung des Pfeiles auf die Bruch-

fläche des Stabes konzentriert werden kann. Nach dem Prinzip des Stabkondensors wird das Lichtbündel dann durch Totalreflexion durch den konischen, ausgezogenen Teil in den Glasfaden geleitet. Der Großteil des Lichtes tritt schließlich in vertikaler Richtung durch die Plattform aus und liefert die für die Beobachtung der Kristallfällungen erforderliche Beleuchtung.

Je nach der Feinheit des Glasfadens kann die Plattform halbkugelige Tröpfchen von 0,2 bis 7 mλ aufnehmen, die mit Hilfe der Mikropipette von den Kapillarkoni oder Reagenskapillaren auf die Plattform gebracht werden.

Feste Stoffe werden am besten in Pulverform auf ein Deckglas aufgestäubt, welches dann etwas geneigt in der feuchten Kammer (oder besser auf der Deckplatte der Kammer, wenn es sich um hygroskopische Stoffe handelt) montiert wird. Teilchen von geeigneter Größe werden zuerst mit Hilfe des Okularmikrometers ausgewählt und dann mittels eines mit Glyzerin behandelten Glasfadens, der vom Manipulator geführt wird, zur Gebrauchsstelle übertragen.[12]

Es ist selbstverständlich, daß die Plattform nur einen kleinen Teil des Gesichtsfeldes eines schwachen Objektivs einnimmt. Stärkere Objektive können zur Verwendung gelangen, wenn man dafür sorgt, daß sich die Plattform nur wenig unterhalb der Decke der Kammer befindet, die zu diesem Zwecke aus einer dünnen Glasplatte oder gar Deckglas genommen wird. Nach Gebrauch wird die Plattform durch Eintauchen in kalte Lösungsmittel und Spülen mit kaltem Wasser gereinigt. Außerdem besteht immer die Möglichkeit, eine frische Plattform zu erhalten, indem man den Faden 1 bis 2 mm vom Ende anritzt und mit Hilfe einer Flachpinzette bricht.

Damit waren fast alle im systematischen Gang der anorganischen qualitativen Analyse notwendigen Manipulationen zur Analyse von Mikrogrammproben in einer solchen Weise verfügbar gemacht, daß eine derartige Analyse mit Schätzung der Mengen in zuverlässiger Weise ausgeführt werden konnte. Die Grundzüge der Arbeitsweise wurden zum ersten Male im April 1937 anläßlich der Versammlung der amerikanisch-chemischen Gesellschaft in Chapel Hill, North Carolina, beschrieben.[13] Die Ausarbeitung der Einzelheiten und die tatsächliche Durchführung langwieriger Trennungen erfolgte später durch *M. Cefola*[14, 15]. Unter Benutzung von Mikroprojektion wurde die Arbeitsweise von dem letzteren im Jahre 1940 dreimal vor einer großen Zahl von Wissenschaftlern vorgeführt. Dies setzt natürlich viel Übung voraus, bietet aber anderseits wenig Schwierigkeit, da die Objekte vom Gesichtspunkt des Mikroskopikers aus doch noch sehr groß sind und bei günstiger Auswertung der Lichtquelle dem Projektionsbild ein Durchmesser von mehreren Metern gegeben werden kann. Zur Illustration mag erwähnt werden, daß bei

der Vorführung für die Ortsgruppe New York[16] der amerikanisch-chemischen Gesellschaft mehrere hundert Personen anwesend waren.

In der Zwischenzeit wurden auch Versuche zur Ausführung von Schmelzen zur Aufschließung unlöslicher Proben ausgeführt, über die vor der mikrochemischen Sektion anläßlich der Tagung der amerikanisch-chemischen Gesellschaft in Milwaukee berichtet wurde.[17] Der erste Anlaß zu Bemühungen in dieser Richtung ergab sich im Zusammenhang mit der Analyse von Glasuren an antiken Töpfereifragmenten von Doura-Europos. Unerläßlich wurde ein Mikrogrammverfahren für den Aufschluß aber erst für die Untersuchung eines Cäsiumsalzes, das sich bei Scheerversuchen unter großem Drucke verfärbt hatte. Unter dem Mikroskop ließen sich dunkle Teilchen an einigen Körnchen des Salzes erkennen und nur einige Milligramm des Cäsiumsalzes waren verfügbar. Der Nachweis von Eisenoxyd wurde an einem einzigen Körnchen des Cäsiumsalzes wie folgt durchgeführt.

Zum Schutz gegen die Wärmewirkung wurde eine Glasplatte horizontal und etwa 1 cm unterhalb des Objektivs (3×) eines Greenough Binokularmikroskops eingespannt. Ein Platindraht von 0,01 mm Durchmesser wurde an einem Ende in eine Kapillare eingeschmolzen, die als Handgriff diente. Die Substanz wurde auf einem Objektträger ausgebreitet und unter dem Mikroskop wurde ein geeignetes Teilchen ausgewählt und in das Zentrum des Gesichtsfeldes gebracht. Das freie Ende des Platindrahtes wurde mit konzentrierter Schwefelsäure befeuchtet und so zum Herausheben des gewählten Teilchens aus dem Gesichtsfelde des Mikroskops benutzt. Nach Entfernen des Objektträgers mit der Substanz wurde der Platindraht horizontal etwa 3 cm über dem Tisch des Mikroskops eingespannt, so daß das Ende des Drahtes mit dem Salzteilchen im Mikroskop eingestellt werden konnte. Eine Mikrogasflamme, von der Größe eines Stecknadelkopfes an der feinen Öffnung einer Glaskapillare brennend, wurde nach den Angaben der Mikrurgen[18] erhalten. Das Glasrohr, aus dem die Kapillare ausgezogen worden war, wurde in die Klammer des Manipulators eingesetzt, so daß die Flamme im Gesichtsfeld des Mikroskops mechanisch bewegt werden konnte. Das Erhitzen des Drahtes wurde vorsichtig an einer Stelle noch außerhalb des mikroskopischen Feldes begonnen und die Flamme langsam der Substanz am Ende des Drahtes genähert. Wenn die Substanz zu einem Tröpfchen geschmolzen war, wurde die Flamme entfernt, das Erstarren der Schmelze abgewartet und die Perle mit einem Tröpfchen konzentrierter Schwefelsäure aus einer Kapillarpipette versetzt. Bei Wiederholung des Erhitzens konnte im mikroskopischen Bild die Verwandlung des Bisulfates in Pyrosulfat und die Entwicklung von Schwefeltrioxyd begleitet von der Auflösung des fraglichen dunklen Teilchens deutlich verfolgt werden. Der Aufschluß war in einigen Sekunden vollzogen und die Perle wurde

durch die Art des Erhitzens immerfort am Ende des Drahtes im Gesichtsfeld des Mikroskops festgehalten. Nach Erkalten wurde das Ende des Drahtes mit der Perle in das in einer Kapillare bereitgehaltene Lösungsmittel eingeführt und die vollständige Auflösung vollzog sich in kurzer Zeit.

Es ist anzunehmen, daß Pyrosulfatschmelzen auch in einem Kapillarkonus aus Quarzglas vorgenommen werden könnten, doch bietet die Perlenmethode einige Vorteile. Da heute feine Drähte aus den meisten Metallen hergestellt werden, ist eine derartige Ausführung der Schmelzen allgemein möglich. Die Durchführung würde durch die Benutzung zweier Manipulatoren, von denen einer den Draht und der andere die Flamme bewegt, erleichtert werden. Im allgemeinen empfiehlt es sich, zuerst die Perle herzustellen und mit dem Okularmikrometer darüber zu wachen, daß nicht ein zu großer Überschuß an Aufschlußmaterial zur Verwendung gelangt. Der Durchmesser der Perle kann leicht vorherberechnet werden, wenn man bedenkt, daß das Volumen des von der Perle umschlossenen Drahtes von 0,01 mm Durchmesser für alle praktischen Zwecke vernachlässigt werden kann. Das Gewicht kugelförmiger Perlen von 0,1, 0,15, 0,2, 0,25 und 0,3 mm Durchmesser kann mit 1, 4,3, 8, 16 und 28 γ in Rechnung gesetzt werden, wenn man 2 als Dichte einsetzt.

Unlösliche Rückstände können suspendiert in einer Flüssigkeit mit Hilfe einer Pipette auf die Perle aufgebracht werden. Feste Proben können durch Berühren mit der halberstarrten Perle oder durch Berühren mit der in geeigneter Weise befeuchteten Perle aufgenommen werden. Zur Behandlung mit Flußsäure wird die Probe und ein Kriställchen Ammoniumfluorid in ähnlicher Weise auf eine Platinkugel von etwa 0,2 mm Durchmesser aufgebracht, die durch Erhitzen in der Gebläseflamme am Ende des feinen Platindrahtes erhalten wird. Konzentrierte Schwefelsäure wird von einer Pipette zugesetzt und das Abrauchen erfolgt durch besonders langsame und vorsichtige Annäherung der Mikroflamme, indem man mit dem Erhitzen in einem Abstand von etwa 3 cm von der Kugel beginnt.

In der Zwischenzeit war auch die grundsätzliche Zulässigkeit der Mikrogrammverfahren durch die Arbeit von *J. R. Rachele*[19] auf einem weitaus kleineren Maßstab sichergestellt worden. Diese Arbeit wurde mit der Absicht unternommen, eine wenn schon im Ausmaß notwendigerweise beschränkte, so doch im engen Rahmen zuverlässige Übersicht über die erreichbaren Grenzen chemischen Experimentierens unter dem Mikroskop zu gewinnen. Einfache Versuche, wie der Nachweis von Sulfat durch Fällung mit Bariumchlorid und der Nachweis des Eisens als Berliner Blau, wurden in kleinen Tröpfchen unter dem Mikroskop durchgeführt.

Derartige Versuche waren grundsätzlich nicht neu. *R. Chambers*[20] empfiehlt sie als Vorübung zur Erlernung der mikrurgischen Arbeits-

weise. Doch waren nur ungefähre Schätzungen der Empfindlichkeit dieses Arbeitsverfahrens zu erhalten. Es lag daher die Aufgabe vor, die Versuche in einer Weise zu wiederholen, die eine verläßliche Schätzung der Lösungsmengen zuließ.

Die Versuche wurden an der Unterseite des Deckglases einer feuchten Kammer so ausgeführt, daß Beobachtung mit Vergrößerungen bis zu 1000× keine Schwierigkeit bot. Zwei Mikropipetten wurden bereitgehalten, von denen die eine für die Versuchslösung und die andere für das Reagens verwendet wurde. Beide Mikropipetten, die an der Öffnung der Spitze einen Durchmesser von weniger als 1 μ hatten, wurden mit Hilfe zweier Mikromanipulatoren von *Chambers* bewegt, und auch für das Übertragen von Lösungen wurde der einfache Injektionsapparat von *Chambers*, bestehend aus Pipettenhalter, biegsamem kupfernem Verbindungsrohr und Glaskörper einer Injektionsspritze, alle vollständig mit ausgekochtem Wasser gefüllt, übernommen, da eine besonders feine Regulierung des ausgeübten Druckes, wegen der großen Oberflächenkraft (bis zu 0,7 Atmosphären) an der Spitze der Pipetten, nicht erforderlich ist.

Bereits die Versuche zur Messung des Volumens der zur Verwendung gelangenden Lösungen stießen auf eine Reihe von Schwierigkeiten. Zunächst wurde die Erfahrung gemacht, daß Wassertröpfchen von einigen Mikron Durchmesser sowie Tröpfchen sehr verdünnter Lösungen selbst in einer vollständig geschlossenen feuchten Kammer innerhalb einiger Sekunden vollständig verdunsten. Dies ist nicht zu verwundern, da die kleinen Tröpfchen einen merklich größeren Dampfdruck haben müssen als die Atmosphäre der Kammer, die mit einer größeren Wassermasse im Gleichgewicht ist. Auch innerhalb der Kammer in einem Film von Paraffinöl suspendierte Tröpfchen zeigten dasselbe Verhalten. An Salzlösungen mäßiger Konzentration wurden jedoch keine Volumveränderungen beobachtet und die Verdunstung sehr verdünnter Lösungen konnte durch Zusatz von Glyzerin verhindert werden.

Tröpfchen, die auf eine reine Glasoberfläche gesetzt werden, fließen natürlich auseinander. Wird Glas mit einer Paraffinhaut überzogen, so nehmen die kleinen Tröpfchen Kugelgestalt an. Dies erlaubt eine einfache Bestimmung des Volumens durch Messung des Durchmessers, doch erwies es sich schwierig, solche Tröpfchen nach Ausmessung wieder mit der Mikropipette aufzunehmen, was aber zur Übertragung zur Gebrauchsstelle nötig ist.

Schließlich wurde gefunden, daß durch Überziehen des Deckglases der Kammer mit Parlodion, einem Nitrozellulosepräparat der Firma Du Pont, eine Oberfläche erhalten wird, an der die Tröpfchen die Gestalt von Halbkugeln annehmen, wenn die Lösung aus einer zur Oberfläche senkrecht stehenden Pipette zugeführt wird. Derartige Tröpfchen

können nach Messung des Durchmessers leicht mit einer leeren Mikropipette zwecks Übertragung aufgenommen werden, doch ließ sich die Gestalt der Tröpfchen weder durch Profilmessungen noch durch Korrelationsversuche mit einer geeichten Mikropipette mit Genauigkeit bestimmen.

Die entscheidenden Versuche wurden daher derart ausgeführt, daß Tröpfchen der Versuchslösung und der Reagenslösung nahe beisammen in einer Paraffinölschichte von 0,05 bis 0,01 mm Dicke derart abgesetzt wurden, daß die Messung des Durchmessers der kugelförmigen Tröpfchen vor ihrer Vereinigung möglich wurde. Der Paraffinölfilm wurde an der Unterseite des Deckglases der feuchten Kammer ausgebreitet, doch war es nötig, das Deckglas vorerst mit Parlodion zu überziehen, da sich sonst die in der Ölschicht abgesetzten Tröpfchen zwischen der Glasoberfläche und dem Öl ausbreiteten.

Das Verfahren hatte den Vorteil, daß die Abwesenheit von Trübung oder Färbung in beiden Tröpfchen noch kurz vor ihrer Vereinigung und das Auftreten von Reaktionsprodukten nach dem Verschmelzen fortlaufend beobachtet werden konnten. Das kleinere Tröpfchen wird vom größeren angezogen und schließlich aufgenommen ohne daß eine Nachhilfe notwendig ist. Tröpfchen von ungefähr gleicher Größe können durch geeignete Bewegung der Pipettenspitze zur Vereinigung gebracht werden.

Die Mikropipetten würden das Arbeiten mit Tröpfchen von weniger als 1 μ Durchmesser gestattet haben, doch war es selbst mit Zuhilfenahme des Epikondensors W von Zeiß unmöglich, mit Sicherheit die Reaktionsprodukte zu erkennen, wenn mit Tropfen von weniger als 7 μ Durchmesser (0,0000002 cmm Volumen) gearbeitet wurde. Unter diesen Umständen mußte man sich mit Erfassungsgrenzen von der Ordnung von 4×10^{-13} bis 10^{-14} g zufrieden geben, die mit einer Mikroskopvergrößerung von etwa 400 Durchmessern erhalten wurden. Die Verwendung stärkerer Objektive erwies sich wegen ihrer ungenügenden Tiefenschärfe als unvorteilhaft. Die Grenze der Beobachtung der Reaktionen war durch die störenden Brechungs- und Spiegelungserscheinungen an der stark gekrümmten Oberfläche der kleinen Tröpfchen gegeben. Jedenfalls war mit weitaus kleineren Stoffmengen als in den Mikrogrammverfahren gearbeitet worden und Abweichungen von dem üblichen chemischen Verhalten der Stoffe waren nicht beobachtet worden.

Die Verfügbarkeit genauer quantitativer Arbeitsmethoden für das Arbeiten mit Mikrogrammproben scheint von einem praktischen Standpunkt weniger wichtig. Wenn man von der Festlegung von stöchiometrischen Beziehungen an Spurenelementen absieht, sieht man, daß die Fragestellung einer mit Mikrogrammengen durchzuführenden Untersuchung im allgemeinen wesentlich qualitativer Natur sein wird. Zur

Identifizierung eines Staubteilchens genügt es zu erfahren, daß es aus Kohle besteht; es hat jedoch keinen Zweck, den Aschegehalt oder die Verbrennungswärme an diesem Teilchen genau zu bestimmen. Aus diesem Grunde wurden keine besonderen Anstrengungen gemacht, die anscheinend unmittelbar anwendbare Arbeitsweise von *Emich* und *Gartner*[21] für gravimetrische Bestimmungen im Kapillarkonus zu erproben. Die Versuche von *Paul E. J. Rochford*[22] wurden vor Fertigstellung der erforderlichen Mikrowaage aus äußerlichen Gründen unterbrochen, doch sollen zwei Beiprodukte erwähnt werden.

Beim Durchlesen der verschiedenen Berichte über die Konstruktion von Quarz-Mikrowaagen[23] kann man sich des Gedankens nicht erwehren, daß ein systematisches Studium der verschiedenen erforderlichen Operationen zu einer zweckmäßigeren und vor allem verläßlicheren Arbeitsweise führen könnte, die mit kleinerem Aufwand von Geschicklichkeit sicherer zum Ziel führen würde. Die verschiedenen Schritte in der Herstellung des Quarzbalkens wurden von diesem Gesichtspunkte geprüft. Es zeigte sich, daß die meisten Arbeiten mit Vorteil ausgeführt werden können, wenn die Arbeitsteile in Klammern so passend eingespannt sind, daß das Quarzglas von selbst zufolge der Schwerkraft und Oberflächenspannung die gewünschte Form annimmt, wenn Gebläseflammen geeigneter Größe zur Erhitzung bestimmter Teile der Konstruktion verwendet werden. Das Herstellen der Endschneiden sei als Beispiel angeführt.

Endschneiden werden oft derart erhalten, daß man einen an das Ende des Balkens angeschmolzenen Quarzfaden (mit Häkchen) nahe am Balken auf eine Dicke von weniger als 5 μ auszieht, so daß der Faden bei jeder Stellung des Balkens seine vertikale Lage beibehält. Der Quarzhaken mit etwa 1 cm langem Stiel wurde zuerst an das Ende des eingeklemmten Balkens angeschmolzen. Dann wurde an den Haken ein Objekt von 0,5 g Gewicht gehängt und das Ende des Balkens vorsichtig mit der Spitze von Gebläseflamme Nr. 3 (unter einem Winkel von 30° gegen die Horizontale nach oben gerichtet) erhitzt. Das Ende des Balkens wurde durch ein Horizontalmikroskop mit 20facher Vergrößerung beobachtet und die von dem Objektiv weggerichtete Gebläseflamme wurde mit Hilfe eines einfachen Manipulators geführt. Beim Erweichen des Quarzes spann sich ein etwa 0,1 mm dicker Faden aus. Wenn er die gewünschte Länge erhalten hatte, wurde die Flamme entfernt.

Zum Ausziehen des feinen Fadens wurde Gebläseflamme Nr. 3 durch Nr. 4 ersetzt und die Mikroskopvergrößerung wurde durch Okularwechsel auf 50× erhöht. Die winzig kleine Flamme wurde von unten und von der Seite her langsam mit Hilfe der Zahntriebbewegung des Manipulators an die Stelle herangebracht, an der der Faden in das Ende des Balkens überging. Die Dicke des Fadens wurde mittels des Okularmikrometers überwacht und, wenn der gewünschte Durchmesser erreicht war, wurde

die Flamme entfernt. Der erhaltene, äußerst feine Quarzfaden bog sich nun unter dem Gewicht des Häkchens in einem Bogen von so kleinem Radius, daß mit unbewaffnetem Auge der Eindruck erweckt wurde, daß der Faden schlaff vom Ende des Balkens herunterhänge und sich in jedem beliebigen Winkel scharf abknicken lasse.

Für alle feineren Arbeiten wurde ein einfaches, selbst hergestelltes Sauerstoff-Leuchtgasgebläse verwendet, das in Abb. 4 dargestellt ist. Leuchtgas und Sauerstoff (unter geringem Druck von einem Reduzierventil) wurden im Dreiwegrohr *g* von etwa 4 mm Lumen gemischt und die Mischung wurde mittels der Schraubenquetschhähne *h* reguliert, deren Wirksamkeit durch das Einbringen von Wattepfropfen in die Gummischläuche verbessert wurde. Die Mischungsvorrichtung wurde auf einem Holzblock befestigt, der auch als Stütze für die das Gebläse haltende Hand benutzt wurde. Ein 20 cm langer Gummischlauch *f* führt die Mischung zum Glasrohr *e*, das als Handgriff dient. Die kleine Erweiterung *c* enthält einen Wattepfropfen und verhindert das Herunterschlüpfen der Drahtspirale mit Haken *d* zum Aufhängen des Gebläses. Das Ende des Rohres ist zu einem Durchmesser von 2 mm ausgezogen, so daß

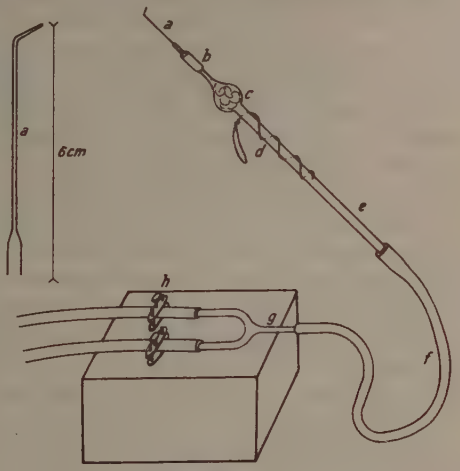


Abb. 4. Sauerstoffgebläse von *Rochford*.

Tabelle 1. Beschreibung der Düsen für das Sauerstoff-Leuchtgas-Mikrogebläse von *P. E. J. Rochford*.

Düse Nr.	Lumen der Kapillare in mm	Durchmesser der Düsenöffnung in mm	Mit der Leuchtgaszufuhr ganz offen	
			Länge der Gasflamme in mm	Länge des inneren Kegels der Sauerstoffflamme bevor Gefahr des Rückschlagens auftritt, in mm
1	2	1	70	3
2	1,5	0,7	40	1,5
3	1	0,4	25	1
4	0,5	0,2	3	0,2

die Quarzglasdüsen *a* unter Vermittlung des kleinen Schlauches *b* leicht ausgewechselt werden können. Die Beschreibung der Düsen ist in Tabelle I gegeben. Um Rückschlagen der Flamme zu verhindern, wurde das Leuchtgas immer voll zugelassen und dann erst Sauerstoff langsam zugemischt. Je feiner die Düse, desto länger muß man nach jeder Einstellung des Quetschhahnes für Sauerstoff warten, bis sich das Ergebnis der Mischungsänderung zeigt. Das Rückschlagen der Flamme ist offenkundig nur durch die Geschwindigkeit des Gasstromes verhindert. Die kleinen zeitweiligen Explosionen sind harmlos, doch empfiehlt sich die Verwendung von Brillen. Wenn man mit den feinen Düsen arbeitet, empfiehlt es sich, die Öffnung derselben im Auge zu behalten. Wenn sie zu glühen beginnt, drosselt man sogleich die Sauerstoffzufuhr ein wenig.*

Die Möglichkeit der Ausführung von *Titrationen* im Gesichtsfelde des Mikroskops wurde von *Anne G. Loscalzo*[24] eingehend untersucht. Verfahren zur Titration von Mikrogrammproben sind ja bereits seit langem in Gebrauch, doch werden allgemein sehr verdünnte Maßlösungen verwendet, die häufig eine verhältnismäßig große Indikatorkorrektur notwendig machen. Wenn man jedoch auf der Beibehaltung der Konzentrationsverhältnisse der Makromethoden besteht, ergibt sich die Notwendigkeit, eine Bürette von nur 50 $m\lambda = 0{,}05$ cmm Inhalt zu verwenden. Eine geeignete Bürette konnte aber leicht durch einige Abänderungen der Ausmaße der in den Mikrogrammverfahren benutzten Mikropipette erhalten werden.

Das Lumen des Schaftes wurde auf etwa 0,2 mm verkleinert und der Schaft wurde in einem Abstand von etwa 1 cm vom ausgezogenen Teil mit einer Bezugsmarke versehen, die einfach durch das Auflegen eines aus eingedicktem Kanadabalsam gesponnenen Fadens erhalten wurde. Irgend eine Hahnvorrichtung war nicht erforderlich, da die an der feinen Ausflußspitze der Bürette ihren Ursprung nehmende Oberflächenkraft ebenso wie in den von *A. G. Hybbinette*,[25] *A. J. Llacer* und *J. A. Sozzi*[26] und neuerlich von *A. Lacourt, P. Stoffyn* und *A. M. Timmermans*[27] beschriebenen Büretten die Funktion des Hahnes übernehmen kann.

Die Mikrobürette wurde wie gewöhnlich in dem vom Manipulator geführten Pipettenhalter eingesetzt. Es erwies sich aber vorteilhafter, auf die Benutzung der üblichen Druckkammer zu verzichten. Wie aus Abb. 3, *II* ersichtlich ist, wurde der Pipettenhalter mittels eines Gummischlauches mit dem Gasraum eines Niveaugefäßes *F* verbunden, das ebenfalls wie die Niveaukugel *G* zum Teil mit Quecksilber gefüllt wurde. Der Schaft der Bürette, der Pipettenhalter und der Verbindungsschlauch wurden nicht wie sonst üblich mit Wasser gefüllt. Der Gasdruck in der

* Man vergleiche das ausgezeichnete Kapitel über Arbeiten mit Quarz von *H. V. Neher* in *John Strong* „Procedures in Experimental Physics", Prentice-Hall, Inc., New-York, N. Y., 1939.

Bürette konnte durch Einstellung des Niveaugefäßes beliebig eingestellt und am Manometerrohr bei *f* abgelesen werden. Das Heben und Senken der Kugel *G* wurde mit Hilfe eines Zahntriebes vorgenommen.

Zur Bestimmung der richtigen Einstellung des Niveaugefäßes wird die Spitze der Bürette in einen Tropfen Wasser eingeführt. Wenn Gleichgewichtsdruck herrscht, kommt der Meniskus in der Bürette, der unter dem Mikroskop beobachtet wird, zum Stillstand. Geringe Veränderung des Druckes ruft entsprechende Bewegung des Meniskus hervor. Der sogenannte Arbeitsdruck wird so gewählt, daß der Meniskus in der Bürette auf der Wanderung gegen die Bürettenspitze 5 bis 80 μ pro Sekunde zurücklegt. Der geringe hiezu erforderliche Druck genügt natürlich nicht, Maßflüssigkeit aus der Spitze zum Austreten zu bringen, wenn diese nicht eine benetzbare Oberfläche berührt. Zur Sicherheit wird die Außenseite der Bürettenspitze mit Paraffin überzogen.

Das Ablesen der Bürette erfolgt so, daß man mit Hilfe des Okularmikrometers den Abstand des Meniskus von der Bezugsmarke bestimmt. Die Kalibrierung kann mit bezug auf die Mikrometerteilung erfolgen, indem man Maßlösung von der Bürette in eine trockene Kapillare von bekanntem gleichmäßigem Lumen in der üblichen Weise überführt und dann das Volumen der gelieferten Flüssigkeit durch Messen der Länge des gebildeten Tropfens bestimmt. Eine Korrektion für die Kurvatur der Menisken wird überflüssig, wenn man nach *Loscalzo* vor Beginn der Kalibrierung einen kurzen Tropfen der Maßflüssigkeit in das offene Ende der einseitig zugeschmolzenen Meßkapillare *m* (Abb. 2*B*) bringt. Nach Zusatz gemessener Mengen von der Bürette ist es dann nur nötig, die Zunahme der Länge des Tropfens zu messen. Die Kalibrierung könnte auch mit Hilfe radioaktiver Lösungen vorgenommen oder auch ganz umgangen werden, indem man der Maßflüssigkeit ein radioaktives Salz zusetzt und die Radioaktivität der titrierten Lösung nach Erreichung des Endpunktes bestimmt.

Während die Mikrogrammbürette sich in jeder Hinsicht bewährte, ist *Loscalzo* aber auf beträchtliche Hindernisse dort gestoßen, wo sie anfangs nicht vermutet wurden. Das während der Titration erforderliche Mischen der titrierten Lösung ließ sich im Kapillarkonus nicht in praktischer Weise durchführen. Es erwies sich notwendig, die zu titrierende Lösung in das etwas konisch ausgezogene Ende (0,2 mm Durchmesser an der Öffnung) einer Kapillare von etwa 0,5 mm Lumen zu bringen. Das andere Ende der etwa 12 cm langen Kapillare wurde in einen mit Wasser gefüllten Pipettenhalter eingesetzt, der mit einer mit Wasser gefüllten Druckkammer in der üblichen Weise verbunden wurde (Abb. 3, *I*). Auf diese Weise wurde es möglich, den Tropfen nach jedem Zusatz von Maßflüssigkeit durch Bewegung des Stempels in der Kapillare einen Millimeter hin und her zu bewegen, was ein sehr wirksames Mischen derFlüssigkeit ergab.

Die Titrationen werden unter dem Mikroskop in einer feuchten Kammer vorgenommen, die einen Kapillarenträger mit den Reagenskapillaren für die Maßflüssigkeiten und andere erforderliche Reagenzien enthält. Die linke Seite der Kammer erhält eine kreisförmige Öffnung, in die ein 10 mm langes Glasrohr von 4 mm Lumen horizontal eingesetzt wird. In das Glasrohr wird ein Tropfen Wasser eingeführt, der den Querschnitt des Rohres vollkommen ausfüllt und durch diesen Tropfen wird die Kapillare, in der die Titration ausgeführt werden soll, in die Kammer eingeführt. Die rechte Seite der Kammer bleibt offen, um der Bewegung der Bürette weiten Spielraum zu geben. Zur Titration wird das Ende der Kapillare mit dem zu titrierenden Tropfen in das Gesichtsfeld des Mikroskops gebracht. Die Bürettenspitze wird der Öffnung der Kapillare gegenübergebracht und der Arbeitsdruck eingestellt. Zum Eintragen von Maßflüssigkeit braucht die Bürettenspitze nur vorgerückt zu werden, bis sie den zu titrierenden Tropfen berührt. Auch das zum Mischen notwendige Hin- und Herbewegen des Tropfens kann zur Unterbrechung des Ausflusses von der Bürettenspitze benutzt werden.

Die größte Schwierigkeit bereitete die Erkennung des Endpunktes. Die üblichen Indikatoren der Azidimetrie müßten in beträchtlich verstärkter Konzentration verwendet werden, um den Farbwechsel in solch kleinen Flüssigkeitsmengen erkennbar zu machen. Die Jodstärkefärbung, die erhalten wird, wenn p_H 7 in Gegenwart von Jodid und Jodat unterschritten wird, kann jedoch leicht erkannt werden. Auch erwies sich argentometrische Chloridbestimmung unter Verwendung von Dichlorfluoreszein möglich. In beiden Fällen konnte das Ergebnis der Makrotitration mit einer relativen Präzision von etwa einem Teil pro Hundert reproduziert werden. Dabei wurden in der Regel nicht mehr als 20 mμ Maßflüssigkeit verwendet, deren Volumen daher um nicht mehr als ± 0,000 2 cmm unsicher sein durfte.

Damit schließt ein umfassender Bericht über alle jene Phasen der Entwicklung der Mikrogrammverfahren, an denen der Verfasser bisher einen persönlichen Anteil hatte. Gerüchte, die darüber hinausgehen, dürften sich wahrscheinlich als unzutreffend erweisen. Die Arbeitsweise hat sich anscheinend in den Händen anderer Forscher für das Studium der Chemie der transuranischen Elemente bewährt[28, 29] und sie ist offensichtlich für das Studium äußerst gefährlicher Stoffe besonders geeignet. Außerdem besteht noch immer die Hoffnung, daß sie auch zur Lösung biologischer Probleme mit Erfolg benutzt werden könnte.

Literatur.

[1] *F. Emich*, Mh. Chem. **36**, 407 (1915).

[2] *F. Emich* in Stähler, Tiede, Richter, Handbuch der Arbeitsmethoden in der anorganischen Chemie, 2. Bd., 2. Hälfte, S. 672. Berlin 1925.

[3] *F. Emich*, Z. analyt. Chem. **54**, 489 (1915).

[4] *F. Emich*, Mh. Chem. **22**, 670 (1901); **28**, 76 (1902).
[5] *F. Emich*, Z. analyt. Chem. **56**, 1 (1917).
[6] *A. A. Benedetti-Pichler*, Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. **9**, 149 (1937).
[7] *E. H. Swift*, A System of Chemical Analysis, New York, 1939.
[8] Unter Benutzung der Kapillarenzange, *F. Emich*, Mikrochemisches Praktikum, S. 86. München 1931.
[9] Daselbst S. 21.
[10] *Anne G. Loscalzo* and *A. A. Benedetti-Pichler*, Ind. Engng. Chem., analyt. Edit. **17**, 189 (1945).
[11] *F. E. Blacet*, *A. L. Sellers* und *W. J. Blaedel*, Ibid. **12**, 356 (1940).
[12] *F. Emich*, Mikrochemisches Praktikum, S. 73. München 1931.
[13] *A. A. Benedetti-Pichler*, Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. **9**, 483 (1937).
[14] *A. A. Benedetti-Pichler* und *M. Cefola*, Ibid. **14**, 813 (1942).
[15] Dieselben, Ibid. **15**, 227 (1943).
[16] Hotel Pennsylvania, New York, 5. April 1940.
[17] Milwaukee, Wisconsin, September 1938.
[18] *Ruth B. Howland* und *M. Belkin*, Manual of Mikrurgy, New York University Press Book Store, 1931.
[19] *A. A. Benedetti-Pichler* und *J. R. Rachele*, Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. **12**, 233 (1940).
[20] *C. E. McClung*, Handbook of Microscopical Technique, New York 1929.
[21] *E. Gartner*, Mh. Chem. **41**, 477 (1920).
[22] Unveröffentlichte Versuche; Queens College 1942/3.
[23] Z. B. *F. Emich*, in Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. I, Teil 3, S. 193ff., Wien und Berlin 1921.
[24] *A. G. Loscalzo* und *A. A. Benedetti-Pichler*, Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. **17**, 187 (1945).
[25] *Anna-Greta Hybbinette* und *A. A. Benedetti-Pichler*, Mikrochem. **30**, 15 (1942).
[26] *A. J. Llacer* und *J. A. Sozzi*, An. Farmac. Bioquim. **16**, 82 (1945).
[27] *A. Lacourt*, *P. Stoffyn* und *A. M. Timmermans*, Mikrochem. **33**, 217 (1947).
[28] *I. Perlman*, Chemical and Engineering News **24**, 3034 (1946).
[29] *G. T. Seaborg*, Science **104**, 379 (1946).

Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Bern.

Zur Biochemie des Scandiums und über seine Abscheidung als Phytat.

Von

G. Beck.

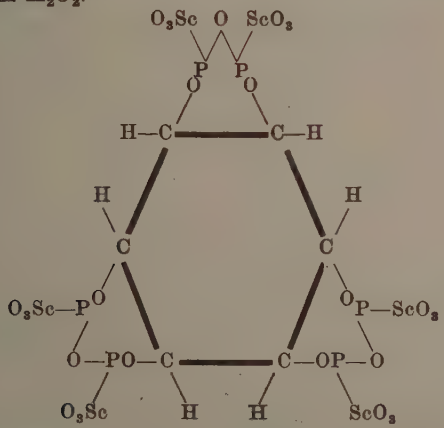
(Eingelangt am 19. Mai 1948.)

Das Scandium ist ein Element der „vernachlässigten Chemie". Es ist im Handel nicht gerade leicht erhältlich, aber, wie *Eberhard*[1] schon 1908 nachwies, in der Natur weit verbreitet. Nach geochemischen Untersuchungen von *I.* und *W. Noddack* und von *Goldschmidt*[2] ist es mit 5 g/Tonne Gestein — und zwar sowohl in Eruptivgesteinen wie in Sedimenten — 10mal häufiger in der Natur als das Jod (man vergleiche daneben einmal den Umfang der Literatur der beiden Elemente), es ist doppelt so häufig wie das Bor, gleich häufig wie Lithium, Beryllium oder Arsen und nur 3mal seltener als Blei.

Wegen seiner allgemeinen Verbreitung steht es den Pflanzen überall im Boden zur Verfügung und kommt, sofern es aufgenommen wird, durch die Nahrung in den tierischen und menschlichen Organismus. Es war nun die Frage, ob es hier nachgewiesen werden könne.

Für die Untersuchung mußte aber eine Methode in Anwendung kommen, die es erlaubte, sehr kleine Mengen Scandium rasch anzureichern, um es alsdann nachweisen zu können. Nun hat das Scandium eine ziemlich ausgeprägte Affinität zum Phosphation. So ist Scandiumphosphat eine der wenigen Verbindungen dieses Elements, die in Ammoniumkarbonat und Essigsäure unlöslich sind. Selbst nach dem Schmelzen mit Natriumhydroxyd im Platintiegel sind im Rückstand noch einige Prozent Phosphorsäure nachweisbar.[3] Es wurden daher verschiedene Phosphorsäureester als Fällungsmittel untersucht und in der Inosithexaphosphorsäure $C_6H_6O_3[OP(OH)_3]_6$ (Phytinsäure) eine Verbindung gefunden, die mit Scandium eine außerordentlich schwerlösliche und stabile Verbindung gibt. Versetzt man eine Lösung von Scandiumsulfat mit Natriumphytat, so entsteht ein weißer flockiger Niederschlag, der selbst in konzentrierter Salzsäure unlöslich ist. Er ist ferner resistent

gegen Salpetersäure, Königswasser und Wasserstoffperoxyd, selbst in der Siedehitze. Auch Titan, Zirkon, Hafnium und Thorium geben mit Phytat in Säuren unlösliche Niederschläge. Doch lösen sich Zirkon- und Hafniumphytat leicht in Oxalsäure und ebenso wie das Titanphytat in Alkalifluorid zum Unterschied gegen Scandium- und Thoriumphytat. Das letztere wird aber leicht von Nitriloessigsäure in Lösung gebracht. Das Scandiumphytat ist außerdem stabil gegen Alkali und Ammoniumcarbonat. Es kann gelöst werden, wenn man den Niederschlag mit Oxalsäure versetzt und mit Natriumacetat abpuffert. Zugabe von Mineralsäure oder Alkali läßt den Niederschlag wieder erscheinen. Das Scandiumphytat ist also nur in einem ganz engen p_H-Bereich-löslich. Die Phytate der seltenen Erden sind in verdünnten Mineralsäuren löslich, nicht dagegen in Essigsäure oder Ammoniumcarbonat. Analog verhält sich Aluminiumphytat, es ist außerdem in Alkalihydroxyd löslich. Interessant ist das Verhalten der Galliumverbindung, die sich als einzige der hier erwähnten Phytate in Ammoniak löst. Beryllium- und Indiumphytat lösen sich auch etwas in Ammoniumcarbonat. Bei einer Verdünnung von 30 γ Sc/ml wird mit Natriumphytat in salzsaurer Lösung eine gerade noch wahrnehmbare Trübung hervorgerufen. Das Löslichkeitsprodukt des Scandiumphytats ist nicht viel größer als das des Bariumsulfats und kleiner als das des Bleisulfats. Dies erklärt die Indifferenz des Scandiumphytats. Titanphytat löst sich auch in H_2O_2.



Die Zusammensetzung des Niederschlags $Sc_6C_6H_6P_6O_{27}.36H_2O$ entspricht einem Neutralsalz des Phytins, während bisher nur saure Salze beobachtet wurden. Zur Analyse wurden 0,3515 g Scandiumphytat bis 150° erhitzt, wobei ein Verlust von 0,067 g eintrat. Vollständige Entwässerung gelang nicht ohne Verkohlung. Durch stärkeres Erhitzen auf helle Rotglut wurden 0,1925 g Scandiumphosphat erhalten statt der für 6 $ScPO_4$

berechneten 0,1830 g. Es war aber noch dunkelgrau gefärbt infolge eines Kohlegehaltes, der auch bei längerem und stärkerem Erhitzen nicht verschwand. Die Verbindung wurde daher im Platintiegel mit NaOH und KNO_3 geschmolzen, in Salpetersäure gelöst und die Phosphorsäure als Phosphormolybdat gefällt und abfiltriert. Im Filtrat wurde das Sc mit Ammoniak bei Siedehitze und längerem Kochen niedergeschlagen. Das Phosphormolybdat wurde in Ammoniak gelöst, wobei eine geringe Menge Scandiumhydroxyd oder Scandiumphosphat ungelöst blieb, und nochmals mit Salpetersäure gefällt und filtriert. Das zweite Filtrat wurde nochmals mit Ammoniak gekocht und die geringe Scandiummenge mit dem ersten Filtrat vereinigt. Es wurden 2,4515 g Ammoniumphosphormolybdat erhalten, entsprechend 0,0928 g P_2O_5 und 0,0926 g Sc_2O_3. Für die Formel $C_6H_6O_3(OPO_3Sc)_6 \cdot 36\ H_2O$ erhalten wir:

Sc_2O_3	ber. 25,6%	gef. 26,4%
P_2O_5	26,4%	26,4%
Glühverl.	48,0%	47,2%.

Es handelt sich demnach um Hexa-scandiumhexaquophytat.

Es wurde nun versucht, das Scandium in verschiedenen biologischen Flüssigkeiten und in Organen über das Phytat zu isolieren und nachzuweisen.

Zur Untersuchung des Urins wurden 6 L in einer Porzellanschale eingedampft und mit konzentrierter Salpetersäure versetzt, wobei unter heftiger Entwicklung von Dämpfen Zersetzung der organischen Bestandteile eintrat. Der weiße Rückstand (cca. 20 g) wurde in verdünnter Salpetersäure gelöst und von den noch vorhandenen Kohlepartikelchen abfiltriert. Diese wurden mit KNO_3 in der Platinschale verbrannt, der Rückstand in HNO_3 gelöst und mit der anderen Lösung vereinigt. Nun wurde 1 ccm einer 30%igen Natriumphytatlösung zugefügt, ferner ein Tropfen Ferrichlorid und, falls nötig, mit Ammoniak die freie Säure etwas abgestumpft. Das nun ausfallende Ferriphytat reißt die vorhandenen Spuren Scandium mit und, wie sich zeigte, auch Spuren von Zircon. Der Niederschlag wurde abzentrifugiert, ausgewaschen und mit wenig NaOH im Platintiegel unter Zugabe von etwas KNO_3 geschmolzen, dann mit Wasser ausgelaugt. (Lösung I.) Das zurückbleibende Ferrihydroxyd mit Spuren Al, Zr und Kieselsäure wurde in HCl gelöst und zur Entfernung des Eisens mit Ammoniak und wenigen Tropfen Schwefelammon versetzt, dann mit Kaliumcyanid gekocht, bis alles Ferrosulfid als Ferrocyankalium in Lösung gegangen war. Um sicher alles Alkalikarbonat zu zerstören (dies würde Sc in Lösung halten), wurde auch etwas Ammoniumchlorid zugegeben. Der geringe weiße Rückstand wurde abzentrifugiert. Nun wurde Lösung I ebenfalls mit Ammoniumchlorid längere Zeit zum Sieden erhitzt und mit dem ersten Niederschlag zu-

sammen abzentrifugiert, dann mit Salzsäure aufgekocht und von den Spuren Kieselsäure abzentrifugiert. Ein Teil der klaren Lösung, die zirka 3 ccm maß, wurde mit Ammoniak neutralisiert, mit Ammoniumcarbonat versetzt und vom ausgeschiedenen Aluminiumhydroxyd abfiltriert. Vom Filtrat wurden 1 bis 2 Tropfen auf einen Objektträger gebracht, dazu ein Tropfen einer gesättigten Natriumfluoridlösung und einige Körnchen Kobaltihexamminchlorid oder -Nitrat. Nach 5 Minuten waren unter dem Mikroskop bei starker Vergrößerung deutlich die gelblichen kubischen Würfelchen des Kobaltihexamminfluoroscandiats $[Co(NH_3)_6]ScF_6$[4] zu sehen. Ein anderer Teil wurde mit Natriumphytat versetzt, wobei eine schwache Trübung auftrat, die mit Salzsäure und Oxalsäure nicht verschwand, was, wie wir gesehen haben, für Sc charakteristisch ist. Ti ließ sich mit H_2O_2 nicht nachweisen. Ein dritter Teil der Lösung wurde mit sehr wenig Alizarinsulfonsäurelösung versetzt. Die entstandene Rotfärbung blieb auf Zusatz von Salzsäure bestehen, verschwand aber mit Natriumfluorid (Gelbfärbung). Natriumphosphat erzeugte eine geringe Ausfällung von in Salzsäure unlöslichen Flocken. Diese Reaktionen sind charakteristisch für Zircon, dessen Menge aber nur wenige γ betrug. Von Sc waren schätzungsweise 10 bis 20 γ pro Liter vorhanden (Grenze der Nachweisbarkeit mit Phytat). Es wurden weiter zwei weibliche Urine untersucht, wobei beim ersten ebenfalls Sc und Zr in der gleichen Größenordnung gefunden wurden. Beim zweiten, der kurz vor Eintritt der Menstruation gewonnen wurde, war der Befund auf Sc fraglich, auf Zr negativ, dagegen war ziemlich viel Aluminiumphosphat vorhanden.

In gleicher Weise wurden 2 L Milch verarbeitet und es konnten hier ungefähr die gleichen Mengen Sc/L festgestellt werden.

Zur Untersuchung des Blutes wurden 3 L Rinderblut im Eisentiegel verascht und am Schluß die Verbrennung der Kohle durch Überleiten eines schwachen Sauerstoffstromes aus einem weiten Glasrohr beschleunigt. Hier war natürlich eine Zugabe von $FeCl_3$ wie bei der Milch und dem Urin nicht notwendig. Es bildete sich im Gegenteil viel $FePO_4$, das nur schwierig mit Säuren in Lösung zu bringen war. Es wurde daher mit Natriumhydroxyd gekocht, abgenutscht, das Ferrihydroxyd in Salzsäure gelöst, und das Filtrat, wie früher angegeben, wegen der Gefahr von Scandiumverlusten durch den Karbonatgehalt der Lauge mit überschüssigem Ammoniumchlorid gekocht, bis sicher alles Ammoniumcarbonat zersetzt war. Der ausgeschiedene Niederschlag wurde abzentrifugiert, mit der ersten Lösung vereinigt und nach Phytinzusatz, wie früher beschrieben, verarbeitet. Der Scandiumgehalt des Blutes war merklich höher als der des Urins oder der Milch (schätzungsweise 50 bis 100 γ/L). Es würde demnach eine Speicherung des Sc im Blut stattfinden.

Analog wie das Blut wurde 1,2 kg Schweinsleber auf Sc untersucht und dieses auch hier in ungefähr der gleichen Größenordnung gefunden

wie im Blut, dagegen war in einem menschlichen Gehirn weniger zu finden (zirka 10 γ/kg).

Von H. *Lux*[5] sind aus 6 kg Knochen 3 mg seltene Erden isoliert worden in denen röntgenographisch auch Sc nachgewiesen werden konnte im Verhältnis $1 : 10^{-9}$. Da er die Erden als Oxalate aus saurer Lösung fällte, ist es möglich, daß große Scandiumverluste eingetreten sind, da Scandiumoxalat merklich löslich ist.

Das Scandium kann umgekehrt auch als Reagens auf Phytin verwendet werden. Ein Tropfen einer Phytinlösung, enthaltend 300 γ/ml, gibt mit Scandiumsulfat noch eine wahrnehmbare Trübung, die nach Zugabe eines Tropfens verdünnter Schwefelsäure nicht verschwindet.

Auch aus Mineralien wie Biotiten ließ sich das Sc über das Phytat rasch anreichern und als Kobaltihexamminfluoroscandiat nachweisen.

Zusammenfassung.

Das Scandium gibt mit Inosithexaphosphorsäure (Phytin) ein sehr schwerlösliches neutrales Salz, das zum Nachweis und zur Isolierung dieses Elements dienen kann. Es ist auch in Mineralsäuren schwer löslich. Durch komplexchemische Methoden kann es von den in starken Säuren ebenfalls schwerlöslichen Phytaten des Titans, Zircons, Hafniums und Thoriums getrennt werden. Über das Phytat wurde Sc aus Urin, Milch, Blut, Leber und Gehirn isoliert und nachgewiesen.

Literatur.

[1] *G. Eberhard*, Sitzungsber. preuß. Akad. Wiss. Berlin **851** (1908); **404** (1919). *R. J. Meyer*, Z. anorg. allg. Chem. **60**, 134 (1908).

[2] *I.* und *W. Noddack*, Naturwiss. **18**, 757 (1930). *V. M. Goldschmidt*, Geochemische Verteilungsgesetze der Elemente. Oslo 1938.

[3] *W. Fischer* und *R. Bock*, Z. anorg. allg. Chem. **249**, 164 (1942).

[4] *G. Beck*, Mikrochim. Acta **2**, 9 (1937).

[5] *H. Lux*, Z. anorg. allg. Chem. **240**, 21 (1938).

Fehlerquellen in der organischen Elementaranalyse XII.* Über Wägungen und Waagen.

Von

Josef Lindner, Innsbruck.

Mit 7 Abbildungen.

(Eingelangt am 6. Juli 1948.)

Vorbemerkungen.

Der allgemeinen Einführung der organischen Mikroelementaranalyse haben sich in der ersten Zeit bekanntlich Schwierigkeiten in den Weg gestellt, die in zäher Ausdauer überwunden werden mußten. Die Frage, welche neuen Erkenntnisse hauptsächlich zum endgültigen Erfolg geführt haben, wird heute kaum aufgeworfen, zweifellos ist aber unter anderem der vervollkommneten Praxis der Wägungen eine Bedeutung zuzuschreiben. *F. Pregl* hat zunächst in der Probierwaage von *W. H. F. Kuhlmann* ein geeignetes Instrument für seine Zwecke gefunden und die mikrochemische Waage, die durch Vervollkommnung aus der ersteren hervorging,** scheint bereits eine Genauigkeit aufgewiesen zu haben, die in neueren Fabrikaten keine wesentliche Steigerung mehr erfahren hat. Die „mikrochemische Waage", so bezeichnet nach *Pregl*, war maßgebend für die Wahl der Substanzmenge in der Höhe von 3 bis 4 mg, ursprünglich 10 mg,[27] womit die zweckmäßige untere Grenze richtig erkannt war. Diese Kuhlmannsche Waage und die analogen Fabrikate vom „Kuhlmann-Typ" haben fortab als notwendiger und ausreichender Behelf der Mikroelementaranalyse gegolten. Ein allgemeiner Übergang zu Substanzmengen in der Höhe von 1 mg erweist sich jedoch nicht mehr als durchführbar. Aber auch Verbrennungsanalysen mit normalen Substanzmengen können

* Vorangehende 11. Mitteilung s. Ber. dtsch. chem. Ges. **76**, 701 (1943).

** Bezüglich Einführung und Anpassung der Probierwaage sei verwiesen auf: *F. Emich*, Lehrbuch der Mikrochemie. 2. Aufl. München, 1926, S. 73; *F. Pregl*, Die quantitative organische Mikroanalyse. 3. Aufl. Berlin, 1930, S. 7; man vergleiche weiter *F. Pregl* in Abderhalden, Handb. der biochem. Arbeitsmethoden. Bd. 5, II. Teil. Wien-Berlin, 1912, S. 1307; *G. Gorbach*, Mikrochem. **20**, 254 (1936).

scheitern, wenn bestimmte, heute zum Teil wenigstens erkannte Versuchsbedingungen der Wägung nicht erfüllt sind. Eben dieser Umstand ist zweifellos verschiedenenorts der Grund für hartnäckiges Versagen im besonderen der Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmungen gewesen.

Diese Erkenntnis wurde mit voller Sicherheit bei eigenen Analysenversuchen am Chemischen Institut der Universität Graz in den Jahren 1920/21 gewonnen, die konsequent bis zum Erfolg durchgeführt wurden. Die Sicherheit der Schlußfolgerung ergibt sich aus ungezählten Wägungen von Absorptionsapparaten, die ein verworrenes Zahlenmaterial lieferten und lediglich die Unmöglichkeit brauchbarer Gewichtsbestimmungen dartaten, anderseits daraus, daß die versuchsweise Verlegung der gesamten Einrichtung in ein günstigeres Zimmer die Analysen schlagartig zum Stimmen brachte. Eine weitere Bestätigung lieferte nachträglich noch die Beurteilung des ursprünglichen Analysenzimmers nach den Gesichtspunkten, die wir *E. Schwarz-Bergkampf*[33] verdanken. Aus den gewonnenen Erfahrungen, also hauptsächlich jenen bei der Wägung der Absorptionsapparate, sind die Ausarbeitung der maßanalytischen Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung und in Verbindung damit die umfassenden Versuche über Fehlerquellen hervorgegangen,[20] worüber im Jahre 1935 zusammenfassend in einer Monographie[21] berichtet worden ist. Geplante systematische Versuche über die Gewichtsveränderung von Absorptionsröhrchen sind in der Folgezeit hinter diesen Arbeiten zurückgetreten.

Besondere Erfahrungen anderer Art, die Waage selbst betreffend, haben die Analysen erbracht, die nach der maßanalytischen Methode, ohne Absorptionsröhrchen, vorgenommen wurden, teils zur Erprobung, teils auch in praktischer Anwendung des neuen Verfahrens, teils unter Verwendung kleinster Substanzmengen bis zur unteren Grenze eines Milligramms. In allen Fällen, ganz besonders im letzteren, wurde höchsterreichbare Genauigkeit der Wägung erstrebt, die erforderlich war, um einen Schluß auf die Exaktheit der Verbrennung und der maßanalytischen Bestimmungen zu erlauben. Die Grenze des Erreichbaren, streng genommen natürlich nur für die verwendete Waage geltend, dürfte wirklicht erreicht worden sein. Festgestellt kann vor allem werden, daß die einfache Substanzwägung nach übereinstimmendem Urteil auch der Mitarbeiter als peinlichster Teil des Analysenganges empfunden wurde, schon durch das stets vorhandene Gefühl der Unsicherheit. Die Möglichkeit der Analysen von Substanzmassen eines Milligramms konnte tatsächlich erwiesen werden, nicht in gelungenen Einzelfällen, sondern in Analysenreihen. Der Wägung auf $\pm 1\ \gamma$, die von *Pregl-Roth*[26] als erreichbar angegeben wird, konnte jedenfalls näher gekommen werden, als von *C. J. van Nieuwenburg*[25] zugegeben wird, doch mit einem Aufgebot von Mühe und „Nervenspannung", womit die von *Nieuwenburg* betonten Unannehmlichkeiten der Wägung mit mikrochemischen Waagen

womöglich noch überboten wurden. Während die beiden Titrationsverfahren zufolge Angabe in der Monographie S. 248 und 269[21] eine Herabsetzung der Substanzmenge auf etwa 0,4 bis 0,5 mg gestattet hätten, mußte nach näherer Begründung in der Monographie S. 23ff. und 367 von einer Übertragung des neuen Verfahrens auch nur auf Mengen von 1 mg für die Praxis abgesehen werden. Auf einen ähnlichen Verzicht wird aber auch von *A. Friedrich* und *H. Sternberg*[13] bei Beschreibung ihres „Kontrollröhrchens" hingewiesen, in ähnlicher Weise von *J. B. Niederl* und *J. R. Meadow*.[23] Ungeachtet seiner günstigen Auffassung über die erreichbare Genauigkeit der Wägung gibt übrigens auch *H. Roth* in der 5. Auflage der Monographie *Pregls*, S. 7,[26] den Bedarf nach einer genaueren Waage für gewisse Zwecke der Mikroelementaranalyse zu. Es kann demnach wohl die Meinung vertreten werden, daß die Leistungsgrenzen auf diesem Gebiete in mehrfacher Hinsicht mit den Leistungsgrenzen der Waagen vom Kuhlmann-Typ zusammenfallen.

Die allgemeinen Urteile über die Genauigkeit der Wägungen mit mikrochemischen Waagen liegen meist zwischen 1 und 5 γ und sind überwiegend ungünstiger als jenes von *Pregl* und *Roth*. Die Gangbarkeit der Analysen an sich macht häufige Abweichungen über den Bereich von $\pm$ 5 γ hinaus unwahrscheinlich, läßt aber keineswegs auf Übereinstimmungen von $\pm$ 1 γ schließen. Die Schätzungen, auf denen die vorerwähnten Urteile beruhen, dürften indessen hauptsächlich nur die unvollkommene Reproduzierbarkeit der Wägungen zur Grundlage haben. Eine solche Beurteilung hat im Grunde ein theoretisch genaues Funktionieren des Hebelwerkes, gleichsam eine Idealwaage zur Voraussetzung, vergleichbar mit dem idealen Gasgesetz und seiner Anwendung auf Realgase. Die Auffassung findet ihren äußersten Ausdruck in der Meinung, daß die Waage eine Gewichtsbestimmung von Körpern bis zu 20 g auf $\pm$ 1 γ in müheloser Wägung gestatte. Inwieweit eine reale Waage davon abweicht, zeigt ein Vergleich des einfachen Hebelgesetzes mit der Formel für die Gleichgewichtsbedingung einer Waage, beispielsweise nach *W. Felgenträger*,[8] die Angaben von 3 Massen, 10 Längen und 6 Winkeln enthält, welch letztere mit 11 Winkelfunktionen in die Gleichung eingehen. Hiebei ist noch von der Unvollkommenheit der Achsen, Deformation des Balkens und anderem abgesehen.

Die folgenden Ausführungen sollen sich hauptsächlich mit Unvollkommenheiten der Waage befassen, die ein Abweichen vom gesetzmäßigen Verhalten, daher eine fehlerhafte Gewichtsanzeige zur Folge haben, die bei der Wägung aber größtenteils nicht auffallen. In einem späteren Abschnitt soll auf den Auftrieb und in kürzerer Form auf Störungen durch äußere Einflüsse eingegangen werden, die sich zumeist unmittelbar bemerkbar machen und in der Fachliteratur dementsprechend mehr Beachtung gefunden haben.

Zur Durchführung der einschlägigen Versuche stand eine mikrochemische Waage der Firma Starke & Kammerer (Welharticky & Pachner) zur Verfügung, bezogen im Jahre 1932, die schon zu den Analysen und Untersuchungen in der erwähnten Monographie[21] gedient hat. Die Waage steht, ohne einer Wiederherstellung unterworfen, aber auch ohne übermäßig beansprucht worden zu sein, auch derzeit noch für Mikroanalysen in Verwendung. Raum und Art der Aufstellung können als zweckentsprechend bezeichnet werden. Ob für Versuche der vorliegenden Art eine neu adjustierte oder eine benützte, noch verwendbare Waage als besser entsprechend gelten kann, könnte umstritten werden. Das Hauptgewicht ist auf die Verwendbarkeit für Analysen zu legen. Eine gründliche Bearbeitung der Frage müßte sich richtiger Weise auf mehrere Waagen stützen. Dem steht jedoch außer den erforderlichen Mitteln auch der erforderliche Arbeitsaufwand im Wege. Auch bescheiden erscheinende Ergebnisse müssen unter Umständen mit wiederholten, Zeit und Aufmerksamkeit beanspruchenden Versuchen erkauft werden. Die Feststellungen an der einzelnen Waage können selbstverständlich nicht willkürlich verallgemeinert werden, sie lassen aber die wahren Verhältnisse in einem konkreten Fall erkennen.

Als Konstante der Waage seien vorausgeschickt: Balkenlänge $H_l + H_r = 70$ mm (s. S. 71), Balkengewicht $B = 18{,}3834$ g, 3 Stahlschneiden, Gewicht der Kugel zur Einstellung auf geringere Empfindlichkeit 0,1097 g (s. S. 76), Zeigerlänge 135 mm, Schale mit Gehänge links 11,9877 g, rechts 11,9875 g.

Die Durchführung der Arbeit war durch das Entgegenkommen Herrn Prof. *F. Patats* am Chemischen Institut der Universität möglich, wofür ihm an dieser Stelle der Dank ausgesprochen sei. — Die Fachzeitschriften der letzten Jahre waren nicht in der erwünschten Vollzähligkeit zugänglich. Sollte eine einschlägige Literaturstelle übersehen worden sein, so möge das Versäumnis auf diesen Umstand zurückgeführt werden.

A. Unvollkommenheiten der Waage.

Die Wägung mit einer analytischen Waage kann man als Vergleich der Drehmomente auffassen, indem man das Moment $P_l H_l$ (linksseitige Belastung einschließlich Schale und Gehänge × Hebelarmlänge) zergliedert in $(P_l' + P_l'' + P_l''') H_l = P_l H_l$, derart, daß sich die Beziehungen ergeben:

1. $P_l' H_l = P_r H_r$ (Gegengewicht samt Schale und Gehänge × Hebelarmlänge auf der rechten Seite).
2. $P_l'' H_l = R\,h$ (Reitergewicht R × Hebelarmlänge h).
3. $P_l''' H_l = B\,a\varphi$ (Gewicht des Balkens B × Abstand a seines Schwerpunktes von der Mittelachse × Ausschlagwinkel φ, positiv gerechnet als Ausschlag nach rechts).

Die Besprechung gliedert sich damit in die Fragen:
1. der Gewichte und Hebellängen;
2. der Reitervorrichtung, und
3. der Ausschläge und Empfindlichkeit.

Die drei Schneiden sind hiebei zunächst als vollkommen parallel mit Anordnung in einer Ebene angenommen, worauf, wie bekannt, die Unabhängigkeit des Ausschlages φ von der Gesamtbelastung $P_l + P_r$ zurückgeführt wird. Die Verlegung der Ausgangsstellung des Reiters auf das linke Ende des Balkens ist für die Betrachtung nicht von Belang.

1. Gewichte und Hebellängen.

a) Gewichtssätze.

Die Voraussetzung richtig geeichter Gewichte als Vorbedingung richtiger Wägungen erscheint von Anfang selbstverständlich, wird aber erfahrungsgemäß in der Praxis (als Sache des Waagenfabrikanten) häufig außer acht gelassen. Auf die Tatsache ist in der Fachliteratur mehrfach hingewiesen.[9, 19, 39] Angaben über Wägungen schwerer Körper auf $\pm 1\ \gamma$ beinhalten u. a. schon eine weitgehende Unterschätzung der damit verbundenen Anforderungen an die Gewichtssätze, die auf keinen Fall die erforderliche Genauigkeit aufweisen und deren hinreichend genaue Eichung, so daß beliebige Zusammenstellungen von Gewichtsstücken richtige Gesamtgewichte auf $\pm 1\ \gamma$ darstellen, mit den üblichen mikrochemischen Waagen schlechthin ausgeschlossen ist. Man vergleiche auch Monographie,[21] S. 32. In der organischen Mikroelementaranalyse wird die Benützung der Gewichtsstücke von mehr als 0,05 g durch die Verwendung von Tarastücken im allgemeinen umgangen. Da das Reitergewicht von 5 mg überwiegend verwendet wird, ist für die Übereinstimmung der Wägungen unter sich nur die genaue Beziehung zwischen Reiter und diesen kleinsten Gewichtsstücken ausschlaggebend, die durch wiederholten Vergleich auf der Waage mit befriedigender Sicherheit festgestellt werden kann.

b) Das Hebelverhältnis.

Als gleicharmige Waagen sollten die mikrochemischen wie die analytischen Waagen überhaupt die Beziehung $H_l = H_r$, daher im Falle $P_l H_l = P_r H_r$ auch $P_l = P_r$ aufweisen und den Vergleich zweier Massen bis zur Höchstbelastung der Waage nach dem einfachen Vorgang der chemischen Wägung gestatten. Die Proportionalität zwischen den Größen P und H würde indessen für eine genaue Wägung eines Körpers von 20 g auf $\pm 1\ \gamma$, den Bruchteil $5 \cdot 10^{-8}$, auch eine gleiche Exaktheit der Hebellängen erfordern. Das wäre für $H_l = H_r = 35$ mm eine Genauigkeit von $\pm 1{,}75 \cdot 10^{-6}$ mm oder 1,75 mμ, dem Verhältnis nach der Abgrenzung einer Länge von 1 km auf 0,05 mm entsprechend. Technisch kann einer derartigen Forderung nicht voll entsprochen werden und sie wird bei

physikalischen exakten Wägungen auch nicht vorausgesetzt. Die Bestimmung des Hebelverhältnisses bei der Waage von Starke & Kammerer hat indessen die unerwartete Beziehung $H_1 : H_r = 1 : 0{,}999915$ ergeben, während eine beiseite gestellte mikrochemische Waage von Kuhlmann das günstigere Verhältnis $1 : 1{,}000005$ zeigte, eine alte Makrowaage gleicher Bauart von Kuhlmann (Modell 4a) $1 : 0{,}999994_5$. *F. Emich*[7] gibt in seinem Praktikum S. 52 an, allerdings nicht zahlenmäßig, daß die Gleichheit der Balkenarme in der Regel vorhanden sei.

Eine einfache Wägung eines 20 g schweren Körpers mit der ersten Waage würde eine Abweichung von $+ 1700\,\gamma$ (!), eine solche mit der zweiten, immerhin noch $- 100\,\gamma$ ergeben, wobei die Differenzen $H_l - H_r$ nicht mehr als $+ 0{,}0029$ und $- 0{,}00017$ mm betragen. Bei Massen in der Größenordnung einer Analysensubstanz tritt der Einfluß in beiden Fällen in den Hintergrund.

Für die Verwendbarkeit in der Analyse bedeutet die Unstimmigkeit im Hebelverhältnis, obzwar unerwünscht, an sich keine Beeinträchtigung, soweit die Konstanz des Verhältnisses erfüllt ist. Beachtung verdient jedoch, daß beispielsweise die Verwendung einer „halbmikrochemischen" Waage für die Wägung der verhältnismäßig schweren Absorptionsröhrchen grundsätzlich eine Kontrolle der Übereinstimmung beider Waagen erfordern würde.

c) *Konstanz des Hebelverhältnisses.*

Für das richtige Ergebnis der Analysenwerte in Prozentgehalten ist, unabhängig von der absoluten Richtigkeit der bestimmten Gewichtsmenge, ausschlaggebend, daß die Zahlen der Einwaage und Auswaage in übereinstimmendem Verhältnis zu den tatsächlich vorhandenen Mengen stehen. Das Abweichen des Hebelverhältnisses von 1 : 1 stört aus diesem Grunde nicht, doch ist die Konstanz des Verhältnisses bei allen Wägungen einer Analyse eine Grundbedingung. Das Gleichbleiben von $H_l : H_r$ erschiene durch die Konstruktion des Balkens gesichert, tatsächlich kann jedoch bei mangelnder Parallelität der Schneiden durch Verschiebung der Pfannen, durch Schrägstellung des Balkens, wie aus den Gleichungen *Felgenträgers*[8] zu ersehen ist, aber auch z. B. durch unsymmetrische Biegung des Balkens eine Änderung der effektiven Armlängen eintreten. Um eine allfällige Wirkung solcher Art nachzuweisen, die grundsätzlich von wichtiger Bedeutung, aber als geringfügig vorauszusetzen war, wurden je zwei 5 g- und zwei 10 g-Gewichte mit Aluminiumhaken versehen und durch Zufeilen der letzteren auf solche Gewichte gebracht, daß die Waage bei der beiderseitigen Belastung auf den Nullpunkt einspielte. Die Wägungen ergaben in Zahlen: $P_l^1 H_l^1 = P_r^1 H_r^1$ mit Ausschlag $- 1\,\gamma$ im Mittel von 30 Wägungen bei $P_l^1 = 5{,}2367$ g, in gleicher Weise $P_l^2 H_l^2 = P_r^2 H_r^2$ mit Ausschlag $+ 1\,\gamma$ bei $P_l^2 = 10{,}2837$ g. Durch

gleichzeitige Wägung ergab sich $(P_l^1 + P_l^2)\ H_l^3 = (P_r^1 + P_r^2)\ H_r^3$ mit Ausschlag $+ 9{,}5\ \gamma$ als Mittelwert, während $(-1) + (+1) = 0\ \gamma$ zu erwarten war. Das Resultat kann mit $+ 9{,}5 \pm 2\ \gamma$ angenommen werden und läßt eine merkbare Verkürzung des rechten Hebelarmes H_r^3 im Vergleich zum linken (H_l^3) infolge der größeren Belastung mit 15,5204 g erkennen. Folgerichtig muß eine entsprechende Änderung auch schon bei der Wägung von 5,2367 und 10,2837 g, daher $H_l^2 : H_r^2 > H_l^1 : H_r^1$ angenommen werden. Es ist aber ersichtlich, daß dieser Einfluß bei einer Vermehrung der Belastung um einige mg, also bei einer Substanzwägung, nicht merkbar in Erscheinung treten kann.

Der Versuch beschränkt sich auf die Feststellung der Wirkung bei waagrechtem Balken, obgleich bei geneigtem Balken nach den Gleichungen *Felgenträgers* ein stärkerer Einfluß zu erwarten ist. Der Vorgang wurde so getroffen, um die Verwendung des Reiters und große Schwingungen, die die Genauigkeit beeinträchtigen, zu umgehen. Es war ferner eine Vorrichtung improvisiert, die ein Aufhängen und Abheben der Gewichtsstücke vermittelst der Aluminiumhaken an den Haken der Gehänge von außen ermöglichte, eine Vorrichtung, die durch Drehen der Klinken an den Seitentürchen betätigt wurde. Die Wägungen konnten somit ohne Öffnen der Waage beliebig oft unter stetiger Einschiebung einer „Nullpunktbestimmung" wiederholt werden, womit eine bedeutende Erhöhung der Regelmäßigkeit im Funktionieren der Waage erreicht wurde.

Die Feststellung der Wirkung bei waagrechtem Balken bezweckte außerdem, den Nachweis unabhängig von der Rundung der Schneiden auszuführen, deren Einfluß sich in höherem Maße äußert und im 3. Abschnitt gesondert behandelt werden soll.

Von ernsterer Bedeutung sind Änderungen des Hebelverhältnisses, die durch Temperaturgefälle im Bereiche der Waage hervorgerufen werden können. Die Berücksichtigung der damit verbundenen Nullpunktverschiebung vermittelt dagegen keine Vorbeugung. Ist zunächst $H_l = H_r$, so ist bei einer ersten Nullpunktbestimmung $H_l P_l = H_r P_r$ und bei der ersten Wägung $H_l (P_l + p_l) = H_r (P_r + p_r)$, daher auch $P_l = P_r$ und $p_l = p_r$, wobei P_l und P_r die Gewichte der Schalen samt Gehängen, p_l die Belastung (Substanz mit Behälter) und p_r das Gegengewicht angeben sollen. Bei einer zweiten Wägung sei der linke Hebelarm infolge höherer Temperatur um ΔH_l länger als H_r. Es gibt jetzt die Nullpunktsbestimmung $(H_l + \Delta H_l)\ P_l = H_r (P_r + \Delta P_r + \Delta B)$, die Wägung $(H_l + \Delta H_l)\ (P_l + p_l) = H_r (P_r + \Delta P_r + \Delta B + p_r + \Delta p_r)$. $\Delta P_r + \Delta B$ bringt die Nullpunktverschiebung zum Ausdruck, wobei ΔP_r der scheinbaren Gewichtsvermehrung der linken Schale mit Gehänge entspricht, ΔB die Gleichgewichtsstörung des Balkens selbst ausgleicht. ΔB kann hier gegenüber ΔP_r vernachlässigt werden. Bei Unterlassung der zweiten Nullpunktbestimmung erscheint $\Delta P_r + \Delta B + \Delta p_r$, auf Grund dieser letzteren nur Δp_r als Gewichtszunahme von p_l. Die scheinbaren Zunahmen ΔP_r und Δp_r sind, wie ersichtlich, P_l und p_l proportional, sie

stehen zu diesen richtigen Gewichten im Verhältnis von $H_l : \Delta H_l$. Die Verlängerung ΔH_l des linken Hebelarmes beträgt bei einem Messingbalken und bei 0,1° Temperaturdifferenz $H_l \times 1{,}8 \,.\, 10^{-6}$. Die scheinbare Gewichtsvermehrung Δp_l bliebe bei unmittelbarer Wägung einiger Milligramme Substanz unter der Fehlergrenze. Erfolgt die Wägung aber in einem Behälter etwa von 4 g (beispielsweise Schiffchen mit Wägegläschen), so zeigt diese Belastung fälschlich eine Gewichtszunahme von $4 \times 1{,}8 \,.\, 10^{-6} g = 7{,}2\ \gamma$, die in Gesamtheit als Gewichtsänderung der Substanz gedeutet wird. ΔP_r beträge in diesem Falle (da $P_r = 12$ g ist) 21,6 γ. Beträgt die Nullpunktverschiebung (infolge der einseitigen Erwärmung!) nur 10 γ, entsprechend einem Temperaturunterschied von 0,05°, so beläuft sich der Wägungsfehler noch immer auf $10 : 3 = 3{,}3\ \gamma$.

Eine Korrektur der Wägung nach Maßgabe der Nullpunktverschiebung wäre formell möglich, aber nicht verläßlich, weil die Nullpunktlage im Falle von Temperaturdifferenzen stets auch durch Luftströmungen beeinflußt sein wird.

2. Die Reitervorrichtung.

a) Allgemeines.

Bei Wägungen weniger Milligramme mit ausschließlicher Verwendung des Reitergewichtes R fungiert die mikrochemische Waage im Grunde als Laufgewichtswaage. Der Beziehung $P_l' H_l = P_r H_r$ nach Seite 70, mit grundsätzlich konstanten Hebellängen H, deren Unveränderlichkeit durch sorgfältigen Einbau der Schneiden in den Balken gesichert ist, steht hier $P_l'' H_l = Rh$ mit konstantem Gewicht R und abgestuften Hebellängen h gegenüber, denen aus apparativen Gründen nicht die genau feststehenden Werte wie den Abständen der Schneiden zukommen können. Die Fehlertoleranz von h ist zwar gegenüber jener von H_r natürlich im umgekehrten Verhältnis von R zu P_r anzunehmen.

Die Zweckmäßigkeit und Verläßlichkeit der Reitereinrichtung, deren Einführung auf *Berzelius* zurückgeführt wird, steht bei der einfachen Form der alten Analysenwaagen, bei denen nur die mg- und Zehntel-mg-Werte in ganzen Teilstrichen auf dem Reiterlineal abgelesen werden, außer Frage als geeignete Art, die Verwendung von mg- und Zehntel-mg-Gewichtsstücken zu umgehen. Bei der Bestimmung von drei Stellenwerten mit Hilfe des Reiters, so von $n/100$ g, mg und $n/10$ mg bei der Waage Nr. 4a von W. H. F. Kuhlmann oder von mg, $n/10$ mg und $n/100$ mg bei der oberwähnten Probierwaage kann der hinreichend sichere Sitz des Reiters auf $^1/_{10}$ Teilstrichabstand durch die Anbringung von Kerben noch als gesichert gelten. Der Übergang zur Ablesung eines vierten Stellenwertes, $n/1000$ mg, bei den mikrochemischen Waagen erfordert eine genaue Definition des Reiterabstandes h von der Mittelachse bzw. von der Kerbe 0 auf $^1/_{100}$ des Kerbenabstandes, für die man schon bei überlegender Betrach-

tung im primitiven Mechanismus gewiß nicht eine zuverlässige Gewähr erblicken kann. Mag *L. Ramberg* (s. u.) einen Schritt zu weit gehen, wenn er seine Verwunderung darüber ausspricht, daß Kuhlmann (als Waagenfachmann) darauf einging, unter Beibehaltung des Reitertyps eine Genauigkeit von 0,001 mg zu erreichen, insofern als ein Fortschritt gegenüber der Probierwaage doch erzielt wurde, so ist eine gewisse Berechtigung seiner Kritik doch zweifellos zuzugeben. Sicher ist in der Reitervorrichtung eine bedeutsame Unvollkommenheit der mikrochemischen Waagen vom Typ der Kuhlmannschen zu erblicken. Neben der allgemeineren, wertvollen und wohlbekannten Untersuchung *E. Schwarz-Bergkampfs*[33] liegt über die hier aufgeworfene Frage die eingehendere, gerade in ihrer Kritik beachtenswerte, in der deutschen Literatur leider nicht zugängliche Abhandlung von *L. Ramberg*[28] vor, deren Inhalt zum Teil im Referat *G. Gorbachs*[14] über Mikrowaagen wiedergegeben ist.

Ramberg führt eine Unterteilung der Fehler verursachenden Umstände durch und unterscheidet 1. Teilungsfehler, die Kerbenabstände betreffend, 2. „Dislokationsfehler", bedingt durch den Spielraum des Reiters in der Kerbe und auf Verlagerung des Reiterschwerpunktes nach rechts oder links von der Symmetrieebene der Kerbe beruhend, 3. „Winkelfehler," beruhend ebenfalls auf Verlagerung des Schwerpunktes, aber durch Drehung des Reiters um seine waagrechte „Traglinie" (s. u.) in der Kerbe. 1. und 2. faßt er als „Längenfehler" zusammen, weil sie fehlerhafte Abweichungen von der abgelesenen Hebellänge h verursachen. Mit gewisser Berechtigung könnten offenbar auch die Winkelfehler in die Längenfehler einbezogen werden. Für die Teilungsfehler wäre die Aufstellung einer Korrekturtabelle denkbar zum Unterschied von den Dislokations- und Winkelfehlern, die stets verschieden auftretend durch Reproduktion nicht zu ermitteln sind und als „Reproduktionsfehler" zusammengefaßt werden. *Ramberg* geht nach kritischen Betrachtungen mit näherer Formulierung der fehlerhaften Umstände, doch ohne eingehende experimentelle Feststellungen an der gebräuchlichen Einrichtung, zur Einführung eines neuen Reitertyps, des „Stabreiters" über, dessen Konstruktion ebenfalls im Referat *G. Gorbachs*[14] beschrieben ist. Trotz der eingehenden Behandlung durch *Ramberg* können neben seinen drei Fehlerkategorien noch weitere, mit dem gekerbten Reiterlineal zusammenhängende Quellen von Fehlern festgestellt werden.

b) Teilungsfehler des Reiterlineals.

Die 100 Kerbenabstände des Reiterlineals müssen, da sich die Länge bei der Waage von Starke & Kammerer wie bei jener von Kuhlmann auf 70 mm beläuft, übereinstimmend 0,7 mm mit Abweichungen von höchstens 0,007 mm betragen, wenn die Wägungen auf $\pm 1\,\gamma$ genau

ausfallen sollen. Richtiger gesagt muß der Gesamtabstand der Ausgangskerbe von der n-ten Kerbe, d. i. von jener, die bei der Wägung erreicht wird, im ganzen $h = n \times 0{,}7 \pm (< 0{,}007)$ mm betragen. Über diese besonders naheliegende Anforderung der richtigen Teilung liegen die bekannten Messungen von *Schwarz-Bergkampf*[33] an Waagen von Kuhlmann vor, die größte Abweichungen von 0,006 mm an einzelnen Abständen aufzeigten, sehr nahe an die höchste zulässige Fehlerhaftigkeit heranreichend. Es ist auffällig, daß in dieser wichtigen Frage weitere Untersuchungen nicht vorliegen, doch dürfte sich die einschlägige Kritik *Rambergs* mit Unrecht gegen *Schwarz-Bergkampf* wenden. *Ramberg* wendet weiter ein, daß Abweichungen von 0,006 mm in Einzelfällen eine Summierung bis auf ein Mehrfaches bei einer Mehrzahl von Abständen voraussetzen lassen, weil ein regelmäßiger Wechsel von positiven und negativen Abweichungen nicht angenommen werden könne. Der Schluß ist nicht unbedingt zwingend, weil sich kleine Differenzen dieses Ausmaßes ohne eigentliche Teilungsfehler aus Unregelmäßigkeiten in der Ausführung der Kerben erklären könnten. Es ist aber anderseits fraglich, ob ohne weiteres eine Verallgemeinerung des Messungsergebnisses, zumal auf andere Fabrikate, als zulässig betrachtet werden kann.

Ebenfalls die Teilung betreffend, kann hier über eine eigene Untersuchung berichtet werden, die aus einer anders gefaßten Fragestellung hervorging. Die Frage war, ob Wägungen von Substanzen beim Ausgang von verschiedenen Kerben, also einfach bei Verwendung verschiedener Schiffchen, vollständige Übereinstimmung zeigen.

Die Frage sollte zunächst durch Wägungen eines Aluminiumgewichtchens ausgehend von verschiedenen Vorbelastungen der linken Schale entschieden werden, doch scheiterte das Vorhaben im gewöhnlichen Vorgang an den Unregelmäßigkeiten der Ausschläge. Der Versuch, den Effekt von Teilungsfehlern durch Verwendung eines schwereren Reiters zu erhöhen, zeigte, daß die Waage durch Aufsetzen eines 50 mg-Reiters bereits labil wurde. Darüber half die besondere Einrichtung der Waage von Starke & Kammerer hinweg, die sich durch Auflegen einer Kugel auf einen am Zeiger angebrachten Trichter auf $^1/_{10}$ der Empfindlichkeit umstellen läßt (s. S. 70). Da der Schwerpunkt des Balkens durch Aufsetzen des schweren Reiters wieder gehoben wird, stieg die Empfindlichkeit wieder im Verhältnis 7 : 5. Eine Verschiebung des 5 mg-Reiters um 5 Kerben gab bei aufgelegter Kugel und mit dem 50 mg-Reiter auf der Mitte des Balkens einen Ausschlag von 70 anstatt von 50 Zehntelintervallen auf der Skala. Bewirkt demnach eine Verschiebung des schweren Reiters innerhalb einer Kerbe bei dieser Empfindlichkeit einen Ausschlag von 1,7 Zehntelintervallen, so würde eine gleiche Verschiebung des 5 mg-Reiters bei der normalen hohen Empfindlichkeit einen Ausschlag von $1{,}7 \times {}^5/_7 = 1{,}2$, entsprechend 1,2 γ hervorrufen. Der Vorteil der Einrichtung beruht darauf, daß die Störungen (Nullpunktverschiebungen) bei dauernder Benützung der Waage infolge der verminderten Empfindlichkeit weniger zur Geltung kommen und wiederholte Wägungen eine entsprechend bessere Übereinstimmung zeigen. In einigen Fällen mußten zwar trotzdem Pausen in den Wägungen eingeschaltet werden. Anfangs rätselhafte sprunghafte Unregelmäßigkeiten erklärten sich zum Teil damit,

daß das Abheben der Kugel vom Trichter infolge versehentlich falscher Drehung des Arretierungsknopfes und neuerliches Auflegen beträchtliche Änderungen der Gleichgewichtslage der Waage zur Folge hatte, eine Erscheinung, die wegen der Ähnlichkeit der Einrichtung mit dem *Rambergs*chen Stabreiter Interesse beansprucht. — Die rascheren Schwingungen der Waage infolge der geringeren Empfindlichkeit machten sich vorteilhaft bemerkbar.

Als 50 mg-Reiter erwies sich ein solcher von der großen Kuhlmann-Waage Nr. 4a als unbrauchbar, weil er in jeder Lage in der Kerbe festsaß und außerordentliche Winkelfehler zeigte. Ähnlich verhielt sich auch noch ein improvisierter Reiter aus einem hufeisenförmigen Draht mit einem Querstück von 0,5 mm Stärke zur Auflage in der Kerbe (ähnlich Abb. 1). Durch Plattdrücken dieses Querstückes, schließlich auf 0,1 mm, konnte eine Verbesserung aber keine befriedigende Lösung gefunden werden. Eine brauchbare Ausführung ergab sich nach mehreren Versuchen in der Form von Abb. 1. Der Reiter bestand aus einem Kupferdraht mit verstärkten Enden, um den Schwerpunkt tiefer zu legen. Die Biegung bildet oben eine scharfe Ecke, um ein stets gleiches Hängen auf der Verschiebungsvorrichtung und damit ein stets gleiches Aufsetzen auf den Balken herbeizuführen. An den Anbringungsstellen des Querstäbchens wurden durch Zusammenpressen des Reiters mit einem quergelegten dünneren Stahldraht Vertiefungen angebracht, in die ein Stäbchen aus Quarz, entnommen einem Faden von 0,08 mm Stärke, mit Schellack eingekittet wurde. Das Gewicht wurde dann durch Abfeilen der Enden auf 50 mg und die Gesamthöhe durch Umbiegen der Enden auf 12 mm eingestellt. Ein Quarzfaden wurde gewählt, um eine dünne und ganz gleichmäßige Leiste für das Aufsitzen in der Kerbe zu erhalten. Der Reiter war so breit gebaut, daß ein Schleifen der Schenkel am Balken nicht stattfand. Die Beschreibung soll keinen Vorschlag zu einer Anfertigung für die Praxis beabsichtigen, wofür Kupfer und Schellack als Material nicht geeignet erschienen. Die Zerbrechlichkeit des Quarzfadens trat nicht störend hervor und wäre im übrigen einer Deformierbarkeit vorzuziehen.

Die Wägungen wurden im obigen Sinne, aber schließlich in systematischerem Vorgang, wie folgt durchgeführt: Der 5 mg-Reiter befand sich stets auf der linken Schale. Ausgegangen wurde von der Stellung des 50 mg-Reiters auf der Kerbe 0 und entsprechenden Gewichtsstücken (0,010 + 0,020 + 0,0020) g auf der rechten Schale. Nach wiederholter Bestimmung des Ausschlages wurde der Reiter auf Kerbe 10 verschoben und links ein Gewichtsstück von 0,010 g aufgelegt, das als Normalstück betrachtet und stets wieder für den Vergleich verwendet wurde. Der Ausschlag lag in diesem Falle um 4,6 Zehntelintervalle (im Mittelwert) weiter rechts als bei der ersten Wägung. Übereinstimmend wurde der Reiter dann auf Kerbe 10 gegen (0,020 + 0,020) g auf der rechten Schale gewogen, auf Kerbe 20 gebracht und unter Zulage des Normalgewichtes auf der linken Seite wieder die Änderung des Ausschlages bestimmt, die 1,5 Zehntelintervalle betrug. So wurde weiter von der Kerbe 20 auf 30, 30 auf 40 usf. vorgeschritten. Die einfachen Bestimmungen, etwa 600 an Zahl, erwiesen sich als mühsam. Um Sicherheit zu erlangen, mußte der Reiter in Wahrheit wiederholt von links nach rechts hin und zurück verschoben werden, um für die Vergleichbarkeit der einzelnen Wägungen

eine Gewähr zu geben. Die Schwankungen bei Wiederholung gleicher Wägungen, auszulegen als Gesamtwirkung der Winkelfehler sowie der Dislokationsfehler im Sinne *Rambergs* und der Nullpunktverschiebungen, lagen durch Verminderung der letzteren deutlich in engeren Grenzen als bei der normalen Wägung. Einzelne herausfallende Werte ließen auf gelegentlichen abnormalen Sitz des Reiters schließen. Auffällig machte sich in Übereinstimmung mit Beobachtungen *Rambergs* der Unterschied zwischen verschiedenen Kerben bemerkbar, die unterschiedliche Unregelmäßigkeiten im Sitze des Reiters erkennen lassen.

In Tabelle 1 sind in der ersten Zeile die Unterschiede der Ausschläge für die einzelnen Bereiche 0 bis 10, 10 bis 20 usw. des Reiterlineals in Zehntelintervallen der Skala angeführt, und zwar die Mittelwerte der Bestimmungen, negativ, weil sie ein Mindergewicht des Reiters gegenüber dem Normalgewicht zum Ausdruck bringen. Ihre Summe ist — 29,0. Die Verschiebung des Reiters um je 10 Kerben hat demnach gegenüber dem Normalgewicht von 0,010 g eine Ausschlagänderung von durchschnittlich — 2,9 zur Folge. In Zeile 2 sind die Abweichungen der Einzelwerte von dem Mittelwert — 2,9 enthalten. Diese Abweichungen bringen die Unterschiede der Kerbenabstände 0 bis 10, 10 bis 20 usw. vom zehnten Teil der Gesamtlänge 0 bis 100 zum Ausdruck. Die gleichen Unterschiede würden bei Verwendung des 5 mg-Reiters und bei normaler Empfindlichkeit der Waage in den Zeigerausschlägen im Verhältnis 5 : 7 geringere Abweichungen bewirken, welch letztere in Zeile 3 angegeben sind. Zeile 4 enthält die daraus hervorgehenden Abstandsdifferenzen in den Kerbenbereichen angegeben in $\mu = 0{,}001$ mm.

Tabelle 1.

		0 — 10	10 — 20	20 — 30	30 — 40	40 — 50
1	Ausschlagdifferenzen .	—4,6	—1,5	—3,3	—3,2	—3,4
2	Deren Abweichung v. Mittel	—1,7	+1,4	—0,4	—0,3	—0,5
3	Bei normaler Wägung Werte in γ	—1,2	+1,0	—0,3	—0,2	—0,35
4	Teilungsfehler von 10 zu 10 Kerben in μ	—8,4	+7,1	—2,0	—1,4	—2,5

		50 — 60	60 — 70	70 — 80	80 — 90	90 — 100
1	Ausschlagdifferenzen .	—2,4	—1,6	—4,9	—0,9	—3,2
2	Deren Abweichung v. Mittel	+0,5	+1,3	—2,0	+2,0	—0,3
3	Bei normaler Wägung Werte in γ	+0,35	+0,9	—1,4	+1,4	—0,2
4	Teilungsfehler von 10 zu 10 Kerben in μ	+2,5	+6,3	—9·8	+9·8	—1,4

Unvermeidlicherweise sind diese Bestimmungen, die sich an der Grenze der Meßbarkeit bewegen, mit einigen Unsicherheiten behaftet, doch geben sie zweifellos ein richtiges Bild der wahren Verhältnisse. Die Ergebnisse stehen mit jenen *Schwarz-Bergkampf*s der Größenordnung nach in Übereinstimmung, da ein Zusammenwirken bei mehreren Kerben zweifellos auch bei den Kuhlmann-Waagen vorkommt. Fraglich erscheint jedoch, ob die von *Schwarz-Bergkampf* durch Messung festgestellten Unterschiede in den Abständen beim Vorgang der hier vorgenommenen praktischen Prüfung ganz übereinstimmend zutage treten würden.

Die Wägungsfehler durch Fehler in der Teilung können nach den vorliegenden Zahlen über den Wert von 1 γ hinausgehen, doch nicht in hohem Maße. Der Unterschied in den Bereichen 70 bis 80 und 80 bis 90 beträgt fast 3 γ, die Abweichung vom Mittel jedoch nur die Hälfte davon. Größere Fehler bei Zwischenkerben liegen im Bereich der Möglichkeit. Die Anlage einer Korrekturtabelle für die Kerbenfehler, die einen Überblick über sämtliche 100 Abstände in verläßlichen Einzelwerten bieten müßte, kann praktisch kaum in Erwägung gezogen werden.

c) *Fehler durch ungenauen Sitz des Reiters.*

Im Gegensatz zu den Teilungsfehlern, die meßbare Ungleichmäßigkeiten der Kerben darstellen und als solche Längenfehler, d. h. unrichtige Abstände des Reiters von der Drehachse der Waage zur Folge haben, für eine „Reproduktion" eigentlich aber nicht in Frage kommen, sind mit den Dislokationsfehlern *Rambergs* und mit den Winkelfehlern fehlerhafte Verschiebungen und schiefe Stellungen des Reiters in der Kerbe gemeint, die einer experimentellen Bestimmung nicht grundsätzlich unzugänglich, wohl aber praktisch schwer zugänglich erscheinen. In einem bestimmten Fall aufgetretene Fehler dieser Art zu reproduzieren ist wegen der Unfaßbarkeit der mitspielenden Einflüsse ausgeschlossen. Daß man mit der naheliegenden Möglichkeit solcher Fehler und mit der darinliegenden Unsicherheit der Reitervorrichtung von Anfang an gerechnet hat, geht aus der Vorschrift *Pregl*s hervor, die in alle späteren Leitfäden der Mikroanalyse übernommen worden ist, durch Anstoßen des Reiters sein „Einreiten bis zum tiefsten Punkt der Kerbe" herbeizuführen. Der Vorgang kann trotz der gegenteiligen Auffassung *Rambergs* als zweckmäßig bezeichnet werden, womit jedoch eine vollkommene Ausschaltung der Fehler nicht behauptet werden soll.

Was *Ramberg* als Dislokationsfehler bezeichnet, hat *Schwarz-Bergkampf*[33] offenbar mit der horizontalen Abweichung (des Reiters von der Symmetrieebene der Kerbe) vor Augen, die er an verschiedenen Stellen des Reiterlineals im maximalen Ausmaß von 6 μ, entsprechend 1 γ Gewichtsdifferenz vorfand, mithin in der Größenordnung der Teilungsfehler. *Ramberg*[28] scheint, vielleicht auf Grund der Messungen *Schwarz-*

*Bergkampf*s, mit der Möglichkeit einer Beschränkung auf dieses Maß zu rechnen. Weitere experimentelle Untersuchungen über „Dislokationsfehler" scheinen nicht vorzuliegen.

Der „Winkelfehler" unterläuft nach der Formulierung *Rambergs* durch Drehung des Reiters um die „Traglinie", worunter die Verbindungsgerade jener Stellen an den Schenkeln des Reiters zu verstehen ist, mit denen er auf der vorderen und hinteren Kante der Kerbe aufliegt (s. Abb. 2). Die Traglinie würde bei einem Reiter nach Abb. 1 und 3 mit der Querleiste zusammenfallen. Infolge der Neigung des Reiters stimmt der Abstand seines Schwerpunktes von der Kerbe 0 bzw. von der Mittelschneide nicht mit jenem der eben besetzten Kerbe (h) überein. Die Abweichung ist durch die einfache Formel $\Delta h = s \sin \psi$ gegeben, wenn s der senkrechte Abstand des Schwerpunktes von der Traglinie, ψ der Neigungswinkel des Reiters ist. *Schwarz-Bergkampf* gibt den Fehler bei einem Winkel

Abb. 1. 50-mg-Reiter für Versuchszwecke. Abb. 2. 5-mg-Reiter von *Kuhlmann* (oben plattgedrückt). Abb. 3. 5-mg-Reiter von *Bunge* nach *Pregl-Roth*. Abb. 4. 5-mg-Reiter von *Sartorius* nach *Ramberg*.

von 1° mit 6 γ an, wonach er mit einem Werte $s = 2{,}5$ mm und $\Delta h = 42\ \mu$ rechnet. Über die wahrscheinliche und maximale Größe der Fehler gibt er kein Urteil ab, doch findet er in der Unmöglichkeit, den Reiter in die richtige Lage (Sitz und Neigung) zu bringen, den Hauptgrund, weshalb völlige Übereinstimmungen in den Wägungen nicht erreichbar sind. Besonders eingehend befaßt sich mit der Frage des Winkelfehlers *Ramberg*, der darin in engerem Sinne den Anlaß zur Ersinnung seines Stabreiters fand. An einer älteren Mikrowaage von Kuhlmann, gibt er an, unregelmäßige Abweichungen von der Größenordnung 0,01 mg = 10 γ auf dieser Grundlage beobachtet zu haben.

Eigene Versuche an der Mikrowaage von Starke & Kammerer ließen durch seitlichen Druck gegen den oberen Rand der Öse des Reiters reproduzierbare Schwankungen von 20 γ hervorrufen, was mögliche Abweichungen vom Mittelwerte im Ausmaße von 10 γ ergäbe, doch bei Verwendung eines unzweckmäßig massigen Reiters nach näherer Angabe der Monographie S. 25[21], der als unbrauchbar ausgeschieden wurde. Bei einem plattgedrückten Reiter, der von der Firma daraufhin nach besonderer Angabe geliefert wurde und der sich als verwendbar erwies, konnten in gleicher Weise noch Schwankungen von 6 γ entsprechend 3 γ Abweichung vom Mittelwert bewirkt werden. Im Rahmen von $\pm$ 2 γ könnten sich demnach die in der Praxis unterlaufenden Fehler bewegen. In letzter Zeit bezogene Reiter von 0,2 mm Drahtstärke (s. u.) ließen durch seit-

liches Anschieben wieder größere Fehler produzieren. Zweifellos ist in der Unbestimmtheit des Reitersitzes ein wesentlicher Grund für die beschränkte Reproduzierbarkeit der Wägungen gelegen.

Um die richtige lotrechte Stellung des Reiters herbeizuführen, wird von der Firma Bunge der Reiter in geänderter Form nach Abb. 3 (nach *Pregl-Roth*) hergestellt, derart, daß er mit einer waagrechten Stelle des Drahtes in der Kerbe aufliegt. Es kann dazu festgestellt werden, daß sich der oben beschriebene Reiter mit dem Quarzstäbchen als Auflageleiste im Gebrauch bewährte, durch Anschieben an der Öse aber doch schiefe Stellungen, erkennbar an den geänderten Ausschlägen, hervorgerufen werden konnten. *Ramberg*[28] gibt drei einander ähnliche Formen von Reitern der Firma Sartorius wieder (Abb. 4), die den gleichen Zweck durch Tieferlegen des Schwerpunktes erfüllen sollen. Die Einrichtung erscheint ihm zweckwidrig, weil im Ausdruck $\Delta h = s \sin \psi$ mit vergrößertem s die Schrägstellung des Reiters (ψ) um so mehr zur Geltung kommt. Der Schwerpunkt müsse vielmehr nahe an die Traglinie verlegt werden. Der Vorschlag *Rambergs* erscheint aber ebenfalls nicht stichhaltig, insofern $s \sin \psi$ gleichzeitig auch den Hebelarm des Drehmomentes $R \cdot s \sin \psi$ mit Bezug auf die Traglinie darstellt, das die Lotrechtstellung des Reiters bewirkt. Durch Verkleinerung von s wird daher die Tendenz des Reiters, sich lotrecht zu stellen, vermindert. Als letzte und richtige Konsequenz ergibt sich aber für *Ramberg* daraus die Einrichtung des Stabreiters, bestehend aus einem geraden, kreiszylindrischen Quarzstäbchen, in dem Schwerpunkt und Traglinie zusammenfallen ($s = 0$, vollkommene Symmetrie und Homogenität vorausgesetzt).

Der Querschnitt des *Rambergs*chen Stabreiters, in der Kerbe liegend, entspricht der Abb. 5. Er soll eine weitgehende Verminderung der drei von *Ramberg* erläuterten Fehler herbeiführen und damit Wägungen auf 1 γ ermöglichen. Der einfachen Form des Reiters stehen beträchtliche technische Anforderungen in der Ausführung des Reiters und der Verschiebungsvorrichtung gegenüber. Es sei auf die Wiedergabe der Einrichtung im Referat *Gorbachs*[14] hingewiesen.

Die Einrichtung wurde von *Ramberg* an einer von Sartorius hergestellten Waage einer sorgfältigen Prüfung unterzogen. Sein Vorgang war den eigenen, oben beschriebenen Versuchen über Teilungsfehler ähnlich. Das Wesentliche seiner Einrichtung bestand aus dem Stabreiter von 2 mg Gewicht und einem Reiterlineal von der Länge des Balkens mit 40 Kerbenabständen. Die Verschiebung von der ersten bis zur letzten Kerbe entsprach mithin der Auflage von 4 mg auf der rechten Schale, die Verschiebung um eine Kerbe 0,1 mg. Zur Ergänzung des Gewichtsunterschiedes von 4 auf 10 mg war ein 2 mg- oder 6 mg- und ein 4 mg-Gewicht in Form von Ringen vorhanden, die von außen am rechten Ende des Balkens aufgesetzt werden konnten. Die Versuche

beschränkten sich vornehmlich auf die Kerben 1, 11, 21, 31 und 41 als Fundamentalkerben und faßten an erster Stelle die Reproduktionsfehler ins Auge. Das Maß dafür ergeben die Unterschiede in den Ausschlägen bei wiederholtem Aufsetzen des Reiters auf ein und dieselbe Kerbe und den darauffolgenden Ausschlagbestimmungen, wobei nach einem besonderen Schema vorgegangen wurde. Die Reproduktionsfehler waren bei den fünf Kerben merklich verschieden. Die Abweichungen von den Mittelwerten betrugen in 32 von 40 Fällen $< 0{,}5\,\gamma$, nur in einem Falle $1\,\gamma$. Sie liegen zwar tiefer, als sich nach den obigen eigenen Bestimmungen für die übliche Reitervorrichtung mit dem 5-mg-Reiter ergibt, rechnet man jedoch die letzteren auf einen 2 mg-Reiter um, so vermindert sich der Erfolg *Rambergs* im Verhältnis 5 : 2. Man ist geneigt, den erzielten Vorteil im wesentlichen in der kleineren Masse des Reiters zu erblicken.

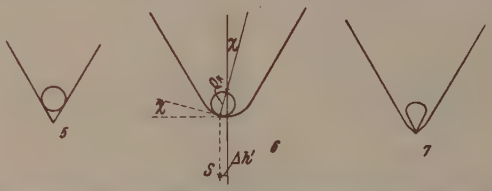


Abb. 5 und 6. Sitz des Reiters in scharf eingeschnittener und gerundeter Kerbe, vergrößert. Abb. 7. Zweckmäßiger Sitz des Reiters, vergrößert.

Übereinstimmend verhält es sich mit den Teilungsfehlern für die angeführten Kerben. Bei einigen Zwischenkerben wurden größere Fehler festgestellt, die den Wert von $1\,\gamma$ überschritten und, auf den 5 mg-Reiter umgerechnet, über die oben (S. 79) mit dem gewöhnlichen 5-mg-Reiter gefundenen Abweichungen sogar hinausgingen. Ein Modell neuerer Ausführung der *Rambergs*chen Waage, ebenfalls der Firma Sartorius entstammend, ist von *J. Kuck* und *E. Loewenstein*[17] untersucht und beschrieben worden. Unter günstigen Bedingungen der Wägung schwankten bei 36 Wägungen eines Platinschiffchens die abgelesenen Ausschläge zwischen den äußersten Werten 65 und 78 nach der üblichen Zählung in Zehntelintervallen bei einem Mittelwert von 69,9 und einer durchschnittlichen Abweichung von $2{,}6\,\gamma$.

Diese vorliegenden Erfolge und die bedeutend erhöhten apparativen Schwierigkeiten lassen fraglich erscheinen, ob die Neuerung *Rambergs* einen ausschlaggebenden Fortschritt in der Wägetechnik erwarten läßt.

d) Die Kerben als Fehlerquelle.

Felgenträger äußert in seiner anerkannten Monographie,[8] S. 163 dem Einwand gegen die Kerbenteilung, sie hindere den Reiter an der zuverlässigen lotrechten Einstellung, könne er nicht beitreten. Die Stellungnahme würde geradezu eine Verneinung des Auftretens von Winkelfehlern

beinhalten und ist auf die mikrochemischen Waagen auf keinen Fall anwendbar, sie kann aber auch bei Analysenwaagen nicht voll den Tatsachen entsprechen. Ein Reiter, der mit einer abgerundeten Fläche aufliegt, hängt, symmetrischen Bau vorausgesetzt, nur auf einer ebenen Unterlage senkrecht, in der Kerbe nur dann, wenn die Symmetrieebenen von Reiter und Kerbe genau zusammenfallen. Ein vollkommenes Einreiten auf diesen Punkt ist aber durch Pendeln des Reiters nicht erreichbar. Ein regelrechtes Pendeln mit allmählicher Abnahme der Ausschläge nach der Beschreibung *Felgenträgers* kommt am besten auf einer glatten Leiste nach Art eines Reiterlineals ohne Kerben zustande, in einer Kerbe nach Maßgabe des Spielraumes nur unvollkommen oder gar nicht. Es ist weiter wesentlich, daß das Pendeln unter Hin- und Herrollen des aufliegenden Teiles vor sich geht und in der Kerbe mit einem Auf und Nieder verbunden sein müßte. Man kann ein solches Pendeln auf einer geraden Unterlage bei Neigungen bis zu 15° und darüber vor sich gehen lassen, ohne daß ein Abgleiten nach abwärts damit verbunden wäre. Das Gleiten wird durch die rollende Bewegung zwar befördert, hat aber noch einen hinreichenden Neigungswinkel zur Voraussetzung und führt, je nach Form der Kerbe, nicht unbedingt bis zur Einstellung auf den tiefsten Punkt. Liegt der Reiter aber mit einer abgerundeten Tragfläche links oder rechts vom tiefsten Punkt auf, angenommen bei einer Neigung der Unterlage von nur $\chi = 7{,}5°$, so schwenkt er auch mit dem Schwerpunkt S bis zur Lage senkrecht unter den Berührungspunkt nach links bzw. rechts. Dies hat nach Abb. 6 eine gesamte Verlagerung $\Delta h'$ des Angriffspunktes der Schwerkraft um $\varrho_k \sin \chi$ nach links bzw. rechts zur Folge, wenn ϱ_k der Krümmungsradius des Kerbengrundes ist. Besitzt der Reiter eine Drahtstärke von 0,2 mm, so muß für diesen Krümmungsradius, wenn ein merkliches Pendeln möglich sein soll, mindestens etwa $\varrho_k = 0{,}2$ mm angenommen werden. Man erhält so $\Delta h' = 0{,}2 \sin 7{,}5° = 0{,}026$ mm $= 26\,\mu$ und für den unterlaufenden Fehler fast $4\,\gamma$. Es ist dabei im wesentlichen gleichgültig, ob der Reiter mit schrägen Schenkeln (Abb. 2 und 4) nur an der vorderen und hinteren Kante der Kerbe oder mit einer waagrechten Stelle des Drahtes (Abb. 1 und 3) auf dem Balken aufliegt. Dies wären die Verhältnisse bei Kerben, bei denen ein Einreiten bis auf den tiefsten Punkt im Wege des Pendelns überhaupt in Betracht gezogen werden kann. In Wahrheit hängt der Reiter aber bei der Waage von Starke & Kammerer wie bei jener von Kuhlmann so in der Kerbe, daß sich im Querschnitt wieder Abb. 5 ergibt. Dieses Verhältnis konnte bei den vorhandenen Waagen und den zugehörigen Reitern festgestellt werden. Der Reiter liegt mit der Drahtstärke von 0,2 mm oder etwas weniger rechts und links in der Kerbe auf und fällt überhaupt nicht auf den Kerbengrund. Infolge der hohen Reibung läßt sich ein richtiges Pendeln wie auf einer ebenen Leiste nicht herbeiführen und die Voraus-

setzungen für die lotrechte Einstellung sind als sehr ungünstig zu erkennen. Es sind daher beträchtliche Winkelfehler nach obiger Angabe vorauszusehen.

Die angeführten Umstände haben einen Gegensatz zwischen dem Dislokations- und Winkelfehler *Rambergs* zur Folge, wie aus den Abb. 5 und 6 unmittelbar ersichtlich ist. Anordnung 5 begünstigt das Auftreten von Winkelfehlern und verhindert das Auftreten merklicher Dislokationsfehler. Bei Anordnung 6 ist für horizontale Abweichungen Spielraum gegeben, der Reiter kann sich jedoch der Schwerkraft folgend einstellen. Es ist eine formelle Frage, ob die für diesen Fall berechnete Verlagerung des Schwerpunktes als Dislokations- oder teils als Winkelfehler aufgefaßt wird. Sollten beide Nachteile vermieden werden, so wäre eine bestimmte gegenseitige Anpassung der Unterlage und des aufliegenden Körpers notwendig. Dabei wäre in erster Linie auf möglichst geringe Reibung bei der Pendelbewegung des Reiters Bedacht zu nehmen, um dem bedeutsameren Winkelfehler zu begegnen und das Einschwenken in die lotrechte Lage zu erleichtern. Vorteilhaft müßte sich demnach eine Ausführung nach Abb. 7 gestalten: Ausstattung des Reiters mit einem Querstück, ähnlich Abb. 1 oder 3, aber mit Ausbildung einer Schneide auf der Unterseite, anderseits Gestaltung des Kerbengrundes in Form eines Flächenwinkels mit glatten Flächen und mit scharf ausgearbeiteter Kante. Der Flächenwinkel müßte soweit stumpf sein, daß der aufsitzenden Schneide Raum für seitliche Schwingungen gegeben wäre. Aufliegen auf beiden Seiten (links und rechts) der Kerbe, auch wenn es je zwei Punkte der vorderen und hinteren Kanten der Kerbe sind, kann nicht als zweckentsprechend bezeichnet werden. Zweifellos würde zwar eine solche Formung des 5 mg-Reiters und seines Gegenstückes erhöhte technische Anforderungen stellen.

Aus dem Auftreten des Winkelfehlers obiger Art folgt mit logischer Bestimmtheit eine weitere Störungsmöglichkeit, die bisher anscheinend nicht beachtet und erörtert worden ist. *Felgenträger* stellt in seiner Monographie (S. 162) zum Verhalten des Reitergewichtes fest: „Sein Schwerpunkt liegt unter der Aufsitzstelle. Er stellt sich also stets senkrecht und behält die Lage im Raum auch bei schwingender Waage. Man kann also die Berührungsstelle mit der Kante als den Angriffspunkt* der Schwere des Reiters ansehen." Ist aber ein Winkelfehler überhaupt möglich, so läßt sich in Wahrheit nicht entscheiden, ob der Reiter bei den Schwingungen der Waage seine lotrechte Lage im Raume oder die ursprüngliche Einstellung zum Reiterlineal beibehält. (Es besteht auch noch die Möglichkeit, daß er beim Ausschlag der Waage infolge stärkerer

* Dabei wäre genau genommen zu beachten, daß die lotrechte Einstellung des Reiters bei schrägem Balken selbst mit einer geringen Verlagerung der Aufsitzstelle verbunden ist.

Schrägstellung eine Schwenkung gegenüber dem Balken vollführt, die bei der Rückkehr in die Nullstellung bestehen bleibt.) Rechnet man mit einem größten Ausschlag des Zeigers von $\pm$ 6 Teilstrichen auf der Skala (gleich 1,5 mm), so beträgt der Ausschlagwinkel 38′, ebensogroß ist auch der Unterschied der Stellungen, die der Reiter im einen und anderen Fall einnimmt. Der Unterschied in der Lage des Schwerpunktes ergibt sich daraus zu $\Delta h = 0{,}022$ mm, der Unterschied in der Gewichtsanzeige zu 3 γ, wenn der Abstand des Schwerpunktes von der Traglinie mit $s = 2$ mm angenommen wird. Nimmt man nicht eine dauernde schräge Stellung von 38′ an, so ist mit unbestimmten und unkontrollierbaren Veränderungen der Stellung im Verlaufe der Wägungen zu rechnen. — Es ist ersichtlich, daß sich die fehlerhaften Wirkungen dieser Art bei kleineren Ausschlägen in proportionalem Verhältnis mit diesen vermindern.

e) *Leistungsgrenze der Reitereinrichtung.*

Aus den Ergebnissen der Versuche und Darlegungen ist zu erkennen, daß die Ungenauigkeiten im Funktionieren der Reitervorrichtung größenordnungsmäßig mit der mangelnden Reproduzierbarkeit der Wägungen annähernd zusammenfallen und jedenfalls für die derzeit erreichbare Leistung dieses Waagentyps hervorragend mitbestimmend sind. Tatsächlich ist in der weitgehenden Ausnützung der Reitereinrichtung, die ihm halb den Charakter von Laufgewichtswaagen verleiht, eine grundsätzliche Schwäche zu erblicken. Allgemein ist das Prinzip der Laufgewichtswaagen offenbar für feine Wägungen deshalb nicht anwendbar, weil die abgestuften Hebellängen nicht mit der erforderlichen Präzision eingehalten werden können. Die Reitereinrichtung war sinngemäß angewendet zur Ermittlung der beiden niedrigsten Stellenwerte der Gewichtsbestimmung, wie auf S. 74 vorausgeschickt wurde. Der Übergang vom dritten zum vierten Stellenwert läßt die Nachteile des Laufgewichtssystems sichtlich in Erscheinung treten. Versuche unter Beibehaltung des 5 mg-Reiters auf 0,1 γ zu wägen und damit noch einen fünften Stellenwert zu beherrschen, lassen erkennen, daß die sachliche Kritik an den apparativen Möglichkeiten mit der Frage, worauf es dabei ankommt, aus den Augen verloren wurde.

Es ist von Interesse, in dieser Entwicklung den mit stiller Selbstverständlichkeit vollzogenen Übergang von Zehner- zu Zehnerpotenz zu beachten, der, offenbar in Befangenheit durch das dekadische System, in der Steigerung auf das Zehnfache die nächsthöhere Stufe der Genauigkeit zu erblicken scheint. Es kann demgegenüber festgestellt werden, daß es in technischer Hinsicht dabei vielmehr auf eine äußerst sprunghafte Steigerung der Ansprüche ankommt und daß auch für den Analytiker schon eine zuverlässige zweifache Genauigkeit einen beachtenswerten Fortschritt bedeutet. Damit sollen die Vorteile der Einhaltung des Zehnersystems im Bereich, der sich beherrschen läßt, nicht in Frage gestellt sein.

Überlegt man, auf welchem Wege sich eine einwandfrei genaue Stellung des Reiters entsprechend den hochgesteigerten Ansprüchen erreichen ließe, so gibt dafür der Waagbalken selbst mit den Endschneiden einen Fingerzeig. Genaue Stellungen wären verbürgt bei Ersatz der Kerben durch nach oben gerichtete Schneiden, auf denen der geeignet geformte Reiter nach Art eines Gehänges aufsitzen müßte. Die Lösung, technisch wohl undurchführbar, würde die sachliche Konsequenz aus den tatsächlich gestellten Ansprüchen darstellen und soll hier nur deutlicher die übersteigerte Auswertung der Reitervorrichtung ins Licht rücken. Tatsächlich dürfte ja der übereinstimmende Zweck von Kerben und Schneiden dem Analytiker kaum zum Bewußtsein kommen.

Als praktisch gangbarer Ausweg, um einen Fortschritt zu erzielen, kommt bei den bestehenden Einrichtungen anscheinend nur die Verwendung eines leichteren, in diesem Falle eines 0,5 mg-Reiters in Betracht, wie auch schon von anderer Seite, ähnlich auch von *Felgenträger* auf S. 165 seiner Monographie[8] festgestellt wird. Nach *Gorbach*[14] werden die meisten Waagen heute auch mit 0,5 mg-Reitern geliefert. Eigene Erfahrungen damit können nicht mitgeteilt werden. Jedenfalls stellt aber die Anbringung zweier Reiterlineale mit Verwendung eines 0,5 mg- neben einem 5 mg-Reiter eine Verkennung des Problems dar und ist von *Ramberg* mit Recht kritisiert worden.

Der 0,5 mg-Reiter läßt bei gleichen Abweichungen von der korrekten Stellung zehnfach geringere Fehler in den Gewichtsbestimmungen auftreten, welcher Erfolg vielleicht durch leichteres Auftreten ungenauer Stellungen eine Schmälerung erfährt. Die Einführung stellt im Sinne der obigen Darlegung eine Rückführung des Laufgewichtsbereiches von 4 auf 3 Dezimalstellen dar. Sie erfordert aber die Handhabung von Gewichtsstücken bis zu 1 mg, was in der Praxis bei manueller Handhabung als Mehrbelastung empfunden würde und merklich zu Störungen der Wägung in anderer Hinsicht beitragen müßte.

3. Ausschlag und Empfindlichkeit.

Die Bestimmung der Hundertstel- und Tausendstelmilligramme nach der Größe des Ausschlages stützt sich auf das Prinzip der Neigungswaagen und nimmt die geringe relative Genauigkeit von 1% in Anspruch. Als wesentliche Fragen kommen hier in Betracht:

a) die richtige Ablesung des Ausschlages auf der Skala,

b) die Unabhängigkeit des Ausschlages bzw. der Empfindlichkeit von der Gesamtbelastung der Waage und

c) die Proportionalität des Ausschlages mit dem zu bestimmenden Übergewicht P_i''' (s. u. und S. 70).

a) Die Ablesung.

Die Empfindlichkeit soll der Grundlage nach so eingestellt sein, daß Ausschlägen von Zehntelintervallen auf der Skala Gewichtswerte von je 1 γ entsprechen. Die Ablesung der Zehntelabstände durch Schätzung

gewährt erfahrungsgemäß für die Praxis hinreichende Sicherheit. Bei Wägungen, die tatsächlich eine Genauigkeit von $\pm 1\,\gamma$ aufweisen und gewährleisten sollen, müßte die Schätzung immerhin als nicht voll befriedigend zu betrachten sein. Die Übereinstimmung der Empfindlichkeit mit der Skalateilung ist meist nicht streng erfüllt und erfordert unter Umständen eine Korrektur, worauf in den Anleitungen zur Mikroanalyse nicht immer in erforderlicher Weise hingewiesen ist. Vollkommenere Vorrichtungen zur Ablesung lassen Vorteile nicht nur durch Erleichterung der Arbeit, sondern mittelbar auch durch geringere Störung der Waage infolge geringerer Annäherung voraussetzen. Bezüglich einer zweckmäßigen Umgestaltung der Skalateilung für die Praxis und der Vorteile, die Dämpfungswaagen bei der Ablesung bieten, sei auf die Ausführungen *W. Zimmermanns*[39] verwiesen.

b) Empfindlichkeit und Belastung.

Die wesentlichste Voraussetzung für die Bestimmbarkeit der beiden niedrigsten Stellenwerte der Gewichtsangabe liegt in der Unabhängigkeit des Ausschlages von der Hauptmasse der Belastung. Die Vorbedingung dafür ergibt sich theoretisch aus der bekannten Gleichung für die Gleichgewichtseinstellung der Waage,

$$\frac{\varphi}{P_l'''} = \frac{H}{B \cdot a + (P_l + P_r)\, b} = E,$$

in der P_l und P_r die Belastungen auf der linken und rechten Seite der Waage einschließlich Schalen und Gehängen, B das Gewicht des Balkens, a den Abstand seines Schwerpunktes von der Mittelachse und b den Abstand der Mittelachse von der Ebene angeben, in die die beiden Seitenachsen fallen. H ($= H_l = H_r$) ist die übereinstimmende Länge der beiden Hebelarme, φ der Ausschlagwinkel, P_l''' jener Restbetrag von P_l, der den Ausschlag bewirkt ($P_l''' = P_l - P_l' - P_l''$) in Übereinstimmung mit der Bezeichnung auf S. 70. P_l''' wird als klein im Vergleich zu P_l vorausgesetzt. Die linke Seite der Gleichung, nach Ableitung $\frac{\operatorname{tg}\varphi}{P_l'''}$ lautend, kann bei kleinem Winkel durch $\frac{\varphi}{P_l'''}$ ersetzt werden, eine Voraussetzung, die im Falle der betrachteten Waagen stets voll erfüllt ist.

Fallen die drei Achsen in eine Ebene, so wird $b = 0$ und die obige Gleichung geht über in $B\,a\,\varphi = H P_l'''$ (vgl. S. 70). Die Erfüllung dieser Bedingung müßte theoretisch bei allen mikrochemischen Waagen zutreffen und wird im besonderen als Vorzug der Waage von Kuhlmann, von *Pregl*[26] und von anderer Seite hervorgehoben. In Wahrheit schließt die obige Grundgleichung indessen, wie von *G. Schmerwitz*[30] zutreffend dargelegt wird, eine praktisch unerfüllbare Voraussetzung ein, weil sie die Hebellängen $H = H_l = H_r$ bei verschiedenen

Lagen des Balkens als unverändert gleich voraussetzt, von der Vorstellung ausgehend, daß die Drehung um ideale Achsen ohne Breitenausdehnung vor sich gehe. Praktisch erfordert das Material der Schneiden, daß diese eine Abrundung aufweisen und mit einer Fläche von meßbarer Breite auf den Pfannen aufliegen. Die Drehung spielt sich daher mit einer Rollbewegung der materiellen Schneiden derart ab, daß beispielsweise die Hebung des linken Hebelarmes eine Verschiebung der Berührungsflächen an den seitlichen Schneiden nach links, an der Mittelschneide nach rechts, damit weiter eine Verlängerung des linken und eine Verkürzung des rechten Armes zur Folge hat. Die Neigung hat also auch eine Zunahme des Drehmomentes links gegenüber dem entgegenwirkenden rechts zur Folge, und zwar eine Zunahme, die der Belastung proportional ist. *Schmerwitz* leitet für die Gleichgewichtsbedingung eine geänderte Gleichung ab:

$$\frac{\varphi}{P_l'''} = \frac{H}{B\,(a + \varrho_m) + (P_l + P_r)\,[a_0 + \varrho_m + {}^1/_2\,(\varrho_l + \varrho_r)]} = E$$

in der ϱ_m, ϱ_l und ϱ_r die Krümmungsradien der Mittel-, der linken und der rechten Seitenschneide, a_0 den Abstand der Mittelschneide von der oben erwähnten Ebene bei unbelasteter Waage angeben. Er stellt fest und weist auch nach, daß zur Herstellung konstanter Empfindlichkeit die Mittelschneide überhaupt nicht in die angegebene Ebene, sondern um den Betrag $\varrho_m + {}^1/_2\,(\varrho_l + \varrho_r)$ tiefer zu verlegen ist. Aus der Gleichung von *Schmerwitz* läßt sich weiter die ebenfalls wichtige Folgerung ziehen, daß eine Proportionalität zwischen Ausschlag und Übergewicht (φ und P_l''') nur bei konstant bleibenden Werten von ϱ_m und $\varrho_l + \varrho_r$ bestehen kann (s. u.). Er weist drittens noch nach, daß eine merkbare Biegung des Balkens, die man vorher für mangelnde Konstanz der Empfindlichkeit E verantwortlich machte, bei den kurzarmigen mikrochemischen Waagen unter der Belastung nicht eintrete.

Die Prüfung der Waage von Starke & Kammerer auf Empfindlichkeit forderte aus diesen Gründen ein erhöhtes Interesse. Die allgemein vertretene Ansicht einer konstanten Empfindlichkeit ließ die Frage der Prüfung als eine prinzipielle erscheinen und nur Abweichungen geringer Höhe erwarten.

Die Versuche wurden daher unter Vermeidung des Reiters und unter Verwendung von Gewichtchen in Form kleiner Streifen von dünnem Aluminiumblech, A mit 0,08 mg, B mit 0,14 mg, vorgenommen, die Ausschläge im Bereiche der Skala bewirkten. Die Waage war so austariert, daß sie sich ohne diese Gewichtchen auf ungefähr —40 bzw. —60 der Skala einstellte, so daß sich die Ausschläge zu etwa gleichen Teilen auf die linke und rechte Seite der Skala erstreckten. Es wurde ferner eine Vorrichtung getroffen, um die vergleichenden Wägungen ohne Öffnen der Waage vornehmen zu können. Ein senkrechter dünner Glasstab konnte mit Hilfe der Reiterverschiebung, die ganz nach links verschoben war, gehoben und gesenkt werden. Ein waagrechter Arm davon reichte mit einer schaufelförmigen Verbreiterung

bis über die linke Waagschale und diente dazu, die Aluminiumstreifchen auf zwei Spangen eines Gestellchens aus Glasfaden aufzulegen und, sie von unten fassend, wieder hochzuheben. Damit war auch ein Anfassen der Gewichtchen mit der Pinzette vermieden und einer allfälligen Gewichtsänderung vorgebeugt. Das Gestellchen, 18 mg wiegend, war natürlich austariert. Die Ausschläge wurden bestimmt bei sonst unbelasteter Waage sowie bei beiderseitiger Belastung mit je 1 g, 5 g und 20 g. Zum genauen Ausgleich dieser Gewichte waren Aluminiumbeilagen bereitgestellt.

Der Vorgang war derart, daß Ausschlagbestimmung, Auflegen des Gewichtchens, Ausschlagbestimmung, Abheben, Ausschlagbestimmung, Auflegen usw. mehrmals, stets bei geschlossener Waage wiederholt wurden. Zum Auflegen der beiderseitigen großen Belastungen mußte die Waage geöffnet werden. Der Vorteil des Arbeitens bei geschlossener Waage und der Vermeidung des Reiters äußerte sich in größerer Regelmäßigkeit der Ausschläge, die durch anfänglich stärkere Abweichungen nach dem Belasten oder Entlasten der beiden Schalen infolge des Öffnens um so eindeutiger ins Licht rückten. Der Verlauf sei an einem Beispiel (Tabelle 2) wiedergegeben:

Tabelle 2.

Ablesungen	— 36		— 35		— 34		— 32		— 33		— 33		
		+ 38		+ 45		+ 46		+ 45		+ 46			Mittelwert
Ausschläge .	74	73	80	79	80	78	77	78	79	79			78,7

In der Tabelle 3 sind unter A die Ergebnisse mit dem leichteren (0,08 mg), unter B jene mit dem schwereren (0,14 mg) Aluminiumgewicht zusammengestellt, und zwar in der Rubrik links die Gesamtbelastungen der Waage, im mittleren Raum die gefundenen Mittelwerte der Ausschläge G, die Gewichten in γ entsprechen sollten. Die Unterschiede dieser Mittelwerte, z. B. in Zeile 1, rühren nicht von Schwankungen nach Art des obigen Beispieles her, denn solche Mittelwerte einer Reihe von Bestimmungen weisen an sich eine höhere Genauigkeit auf. Die Ausschläge zeigten sich nach Zeitabständen vielmehr in Gesamtheit um geringe Beträge kleiner oder größer, bei den Werten der Zeilen 1, 2 und 3 übereinstimmend, so daß sich die zeitlich zusammenfallenden Bestimmungen als besser vergleichbar erwiesen. Die Indizes α und β kennzeichnen die so zusammengehörenden Werte, aus denen die Quotienten $Q' = G_1/G_1$, G_2/G_1 usw. abgeleitet sind. Die Quotienten Q'' ergeben sich aus den Mittelwerten sämtlicher Bestimmungen. Die Quotienten Q' und Q'' in Zeile 2 weisen eine relativ größere Unsicherheit auf, die sich durch einen Interpolationsvorgang beheben ließ (Werte Q'''). Die Werte G und Q lassen einen starken Abfall der Empfindlichkeit mit zunehmender Gesamtbelastung erkennen. Unter sich zeigen die vergleichbaren Werte von A und B eine befriedigende Übereinstimmung an sich, aber auch mit

den Feststellungen *Schmerwitz'*, wonach fast alle Waagen eine beträchtliche Abnahme der Empfindlichkeit mit der Belastung aufweisen. Bei Maximalbelastung betrage sie oft nur noch 50%. Der Balken ohne Schalen und Gehänge gab auf 100 γ einen Ausschlag von schätzungsweise 44 Teilstrichen, also von 440 anstatt 100 Zehntelintervallen.

Tabelle 3.

		Gesamtbelastung	G, Mittelwerte der Ausschläge				Gesamtmittel	Q'	Q''	Q'''
A	1	2 × 0,018	$80{,}5_\alpha$	79,8	$79{,}0_\beta$	78,7	79,5	1,000	1,00	
	2	2 × 1,018	$78{,}5_\alpha$	$78{,}2_\beta$	77,6	78,0	78,1	0,975 (0,99?)	0,98	$0{,}97_5$
	3	2 × 5,018	$70{,}5_\alpha$		70,3		70,4	0,88	0,89	
	4	2 × 20,018		48,5			48,5	0,61	0,61	
B	1	2 × 0,018	$139{,}2_\alpha$	$138{,}3_\beta$	139,7		139,1	1,00	1,00	
	2	2 × 1,018	$136{,}0_\alpha$	$134{,}5_\beta$			135,2	0,975	0,97	$0{,}97_5$
	3	2 × 5,018	$119{,}7_\beta$	121,0			120,3	0,87	0,87	
	4	2 × 20,018		85,0			85,0	0,61	0,61	

Zum angeblichen Verhalten der mikrochemischen Waagen, das auch eine notwendige Voraussetzung einer zutreffenden Gewichtsbestimmung darstellen würde, stehen die Ergebnisse in krassem Widerspruch. Es kann nicht festgestellt werden, wie weit die Abweichung mit der Abnützung der Schneiden zusammenhängen könnte. Bei der oben schon erwähnten beiseitegestellten Kuhlmannschen mikrochemischen Waage betrug der Ausschlag in unbelastetem Zustand auf $P_l''' = 100\,\gamma$ 92, bei Belastung mit je 20 g nur 66, woraus sich der nicht wesentlich bessere Wert $Q = 0{,}72$ ergibt. Es ist kaum anzunehmen, daß sich durch Prüfung der in Verwendung befindlichen Waagen allgemein der richtige Quotient $Q = 1{,}00$ feststellen ließe. Daß es sich bei der Voraussetzung einer konstanten Empfindlichkeit um eine unsichere Grundlage handelt, geht auch daraus hervor, daß bei genauen Gewichtsbestimmungen nach physikalischem Vorgehen die Empfindlichkeit in jedem Einzelfall bei der jeweiligen Belastung durch eine besondere Teilwägung ermittelt wird.

Die obige Interpolation stützt sich darauf, daß die Summen $P_l + P_r$ (24, 26, 34 und 64 g) und die Logarithmen der übereinstimmenden Quotienten unter A und B (1,00, 0,975, 0,88, 0,61) in einem Koordinatensystem sehr angenähert eine Gerade ergeben. Auf dieser Grundlage ist auch die Übersicht nach Tabelle 4 zusammengestellt. In Zeile 2 sind die Ausschläge angegeben, die im Falle der untersuchten Waage bei den aufsteigenden Belastungen nach Zeile 1 durch ein Übergewicht von $P_l''' = 100\,\gamma$ auftreten, vorausgesetzt, daß der Ausschlag der sonst unbelasteten Waage richtig 100 beträgt. Zeile 3 und 4 geben die Wägungsfehler in γ bei $10\,\gamma$ bzw. $50\,\gamma$ Übergewicht an.

Tabelle 4.

Beiderseitige Belastung je			0,0	0,5 g	1 g	2 g	3 g	4 g	5 g	10 g	20 g
Ausschläge			100	98,75	97,5	95,2	92,7	90,3	88,0	78,0	61
Übergewicht	10 γ	Fehl. in γ	0,0	0,1	0,25	0,5	0,7	1,0	1,2	2,2	3,9
	50 γ		0,0	0,6	1,2	2,4	3,6	4,8	6,0	11,0	18,5

Die Zahlen der Tabelle zeigen, daß es sich bei der nicht konstanten Empfindlichkeit um eine ernste Fehlerquelle, im vorliegenden Falle von sehr bedeutendem Ausmaß handelt. Die Fehler bei Substanzwägungen in Platinschiffchen von 0,5 g halten sich noch unter 1 γ, sie können aber bei der Wägung in Schiffchen mit Wägeröhrchen, die unzweckmäßigerweise Gewichte bis zu 4 g aufweisen, bis zu 5 γ ansteigen, bis 11 γ bei der Wägung von Absorptionsröhrchen. Die Fehler wirken sich nur fallweise voll aus, wenn große Ausschläge auftreten, sie verschwinden vollständig, wenn der Ausschlag gleich Null ist. Sie können aber auch noch stärker ins Gewicht fallen, wenn es der Zufall will, daß bei der Wägung des Gefäßes einerseits und des Gefäßes mit Substanz anderseits große Ausschläge nach entgegengesetzter Seite auftreten. Im umgekehrten Falle tritt Ausgleich ein.

Obgleich der Befund bei der untersuchten Waage zweifellos nicht mit seinem extremen Ausmaß verallgemeinert werden kann, dürfte es sich doch um eine beachtenswerte Feststellung handeln. Zwar ist in der Monographie von *Pregl-Roth*[26], S. 12, wohl auch erwähnt, wie man sich durch Verschiebung des Reiters um eine Kerbe von der richtigen Einstellung der Empfindlichkeit bei unbelasteter und maximal belasteter Waage überzeugen kann. Im Vordergrund steht jedoch die in die Beschreibung der Waage stets aufgenommene Feststellung der konstanten Empfindlichkeit, an deren Stelle richtiger ein Hinweis auf die Notwendigkeit einer Prüfung auf die Konstanz treten sollte. Es kann nicht entschieden werden, ob im Falle einer derartigen Bestimmung der oben angeführte Interpolationsvorgang für die Ermittlung der Empfindlichkeiten bei zwischenliegenden Belastungen allgemeine Anwendbarkeit beanspruchen kann.

c) *Proportionalität des Ausschlages mit dem Übergewicht.*

Die Gleichung von *Schmerwitz* bringt wenigstens formell keine Proportionalität zwischen dem Ausschlagwinkel φ und dem Übergewicht P_l''' zum Ausdruck, sofern die Größen ϱ_m, ϱ_l und ϱ_r bei verschiedenen Stellungen des Balkens verschiedene Werte annehmen. Sollten die Krümmungsradien gleich bleiben, so müßten die Abrundungen der Schneiden die genaue Form von Kreiszylinderflächen besitzen. Das Zutreffen dieser

Form ist unwahrscheinlich, es war daher von Interesse, ob die Ausschläge in verschiedenen Bereichen der Skala für gleiche Schwankungen von P_l''' merkbare Unterschiede aufweisen. Die allfällige Wirkung war von Anfang als gering vorauszusehen. Für die Versuche wurde daher die obige Vorrichtung verwendet: Vermeidung des Reitergewichtes und Verwendung kleiner Aluminiumgewichte geeigneter Größe, die ohne Öffnen der Waage aufgelegt und abgehoben werden konnten. Die Waage wurde so austariert, daß sie auf etwa — 30 einspielte, zur Bewirkung des Ausschlages im Mittelbereich — 30 bis + 30 diente ein Gewicht von rund 60 γ. Mit einem Hilfsgewicht gleicher Größe auf der rechten oder linken Schale wurden die Bereiche der Ausschläge nach — 90 bis — 30 einerseits und nach + 30 bis + 90 anderseits verlegt. Sechs Serien von Wägungen nach dem Vorgang von S. 89 gaben für den Mittelbereich der Skala einen Mittelwert der Ausschläge von 64 Zehntelintervallen. Im rechts liegenden Bereich wurde mit dem gleichen Gewicht ein mittlerer Ausschlag von 65, im links liegenden von 67 erhalten. Die Unterschiede von 1 bis 3 γ lägen bei Einzelbestimmungen unter der Grenze der zuverlässigen Bestimmbarkeit, als Unterschiede von Mittelwerten bringen sie zum mindesten das Vorhandensein von Unterschieden mit den richtigen Vorzeichen zutreffend zum Ausdruck.

Die Waage zeigt im Mittelbereich der Skala, bei senkrechtem Aufsitzen der Schneiden eine etwas geringere Empfindlichkeit, was auf größere Werte der Radien infolge Abstumpfung schließen ließe, während bei neuen Schliffen vielleicht ein umgekehrtes Verhalten näherläge. Die erfahrungsmäßige Regel, stark einseitige Ausschläge zu vermeiden, findet möglicherweise im hier nachgewiesenen Verhalten eine sachliche Erklärung. Der Einfluß dieser Art dürfte in der Mehrzahl der Fälle geringer sein als jener durch ungleiche Belastung der Waage. Daß er sich im Gegensatz dazu der Aufmerksamkeit nicht entzog, läßt sich daraus erklären, daß er unmittelbarer in Erscheinung tritt.

Eine einfache Verallgemeinerung der Feststellung ist offenbar auch in diesem Falle nicht statthaft. Die Auswirkungen dieses Einflusses dürften in der Praxis nicht als schwerwiegend zu betrachten sein, da die vorliegende Ermittlung unter extremen Bedingungen vorgenommen wurde, doch bleibt es fraglich, ob sie sich unter allen Umständen unter 1 γ halten.

B. Der Luftauftrieb.

Die ursprüngliche Vernachlässigung des Luftauftriebes war der organischen Mikroelementaranalyse mit dem Makroverfahren und mit der praktischen chemischen Analyse überhaupt gemeinsam. Sie kann als ein Opfer an Genauigkeit zugunsten größerer Einfachheit aufgefaßt werden mit der Rechtfertigung, daß die unterlaufenden Fehler über die

sonstige Unschärfe der Analysenwerte nicht hinausgehen. Das trifft annähernd im Makroverfahren zu, doch ist auch dort schon auf die grundsätzliche Unkorrektheit hingewiesen worden, die in der Anwendung der wissenschaftlichen, auf das Vakuum bezogenen Atomgewichte beim Rechnen mit nicht reduzierten Gewichtsmengen gelegen sei, wie auch auf die damit verbundenen Unrichtigkeiten. Als zweckmäßigen Ausweg schlug *Schoorl* eine besondere Atomgewichtstabelle vor,[31, 4] deren Werte auf Wägungen in der Luft umgerechnet und nach den Bedürfnissen der Analytiker „rationell abgerundet" (auf vier Stellen) sein sollten. Als Beispiel auf dem Gebiete der Elementaranalyse führt *Schoorl*[32] das Dekan ($C_{10}H_{22}$) an, das bei Zugrundelegung von Wägungen an der Luft und von „Vakuum-Atomgewichten" im Kohlenstoff einen Analysenfehler von 0,10% liefere. Die Einführung dieser „Luft-Atomgewichte" ist aus mehrfachen Gründen nicht durchgedrungen.[22, 35]

Viel stärker als diese Unzulänglichkeit, die sich im Mikro- und Makroverfahren in gleichem Ausmaß geltend macht, fällt das bei Mikroanalysen hervortretende Mißverhältnis zwischen den Massen der Analysensubstanz und der Behälter ins Gewicht, das in der Auswirkung des Auftriebes einen größenordnungsmäßigen Unterschied zwischen Makro- und Mikroanalyse bedingt. In letzterer sind die Gewichte der Behälter und daher auch ihre Gewichtsschwankungen durch Veränderungen des Auftriebes im Verhältnis zur Analysensubstanz ungefähr zehnfach vergrößert und letztere in die Größenordnung tatsächlicher Analysenfehler verlegt. Als Abhilfe hat die Verwendung von Taragewichten aus gleichem Material oder aus Material gleicher Dichte, daher mit übereinstimmenden Änderungen des Auftriebes, Eingang gefunden. Diese zweckmäßige Praxis ist aber noch nicht hinreichend durchgedrungen, und an der Ausübung ist das Begnügen mit ungefähren Übereinstimmungen auffällig, die nicht annähernd der vorgegebenen oder erstrebten Genauigkeit von $\pm 1\,\gamma$ in der Wägung Rechnung tragen.

Wird die Substanz in einem Platinschiffchen von 0,5 g wie üblich unter Verwendung einer Aluminiumtara gewogen, so heben sich die Wirkungen des Auftriebes bei den zwei rasch aufeinanderfolgenden Wägungen zwar auf. Soll jedoch das Gewicht der Substanz gegebenenfalls nach längerer Zeit kontrolliert oder soll nach der Verbrennung der Rückstand bestimmt werden, so ist dies einwandfrei nur mit Berücksichtigung der Luftdichte möglich. Der Auftrieb der Aluminiumtara ist um rund $200\,\gamma$ größer als jener des Platinschiffchens, eine Temperaturdifferenz von $\pm 1{,}5°$ oder eine Druckänderung von ∓ 4 mm täuscht bereits eine Gewichtsänderung von $\mp 1\,\gamma$ vor und unter ungünstigen Bedingungen ist ein Fehler von einem Mehrfachen davon möglich. Es ist ersichtlich, daß dem Übelstand mit einer Platintara von 0,5 g vollständig abgeholfen wäre.

Die Wägung einer hygroskopischen Substanz im Platinschiffchen und Wägeröhrchen stellt einen Fall dar, der anerkanntermaßen einer Vorbeugung gegen Fehler durch den Auftrieb bedarf. Für diesen Fall empfiehlt auch *Roth* in der 5. Auflage der Monographie *Pregls*,[26] S. 14 und 57, als Tara ein Wägegläschen gleichen Gewichtes. Die Genauigkeit der Übereinstimmung wird nicht besonders erwähnt, während z. B. *Emich*[6] zum Austarieren eines Porzellantiegels einen gleichen Tiegel verwendet, den er durch Abschleifen mit dem ersten auf 1 bis 2 mg in Übereinstimmung bringt. Nimmt man für das Schiffchen wieder 0,5 g, für das Glasgefäß 3,5 g Gewicht an (vgl. S. 91), so kann das Tararöhrchen entweder nahe an 4 g oder 3,5 g wiegen und in letzterem Falle unter Beilage der Aluminiumtara zur Wägung dienen. In beiden Fällen ist der Luftauftrieb der Tara wie oben um rund $200\,\gamma$ größer und dieser Unterschied ist den gleichen Schwankungen bei Temperatur- und Druckänderungen unterworfen, aber mit dem wesentlichen Unterschied, daß die beiden maßgeblichen Wägungen hier zwangläufig durch Zeitabstände von Stunden oder selbst von Tagen getrennt sein können. Fehler von mehreren γ sind daher trotz der ausgewählten Tara möglich. Eine vollständige Vermeidung wäre wieder in verhältnismäßig einfacher Weise mit einer Tara zu erreichen, die aus einem zweiten Wägegläschen von 3,5 g und der obigen Platintara von 0,5 g, beide zusammen nahe an 4 g, bestehen müßte.

Wählt man in diesem Falle als Tara ein Tarafläschchen von 1 g Gewicht mit 3 g Bleischrot, so ist jetzt der Auftrieb des Schiffchens mit dem Wägegläschen um 0,936 mg größer als jener der Tara. Die Fehler steigen bei 3° Temperaturdifferenz oder 8 mm Druckdifferenz auf $10\,\gamma$ an und können wahre Fehlschläge in Analysen bewirken. Eine derartige Tara aus zwei Bestandteilen würde aber sogar die Möglichkeit bieten, die Mengen von Glas und Blei so zu bemessen, daß der Gegenstand der Wägung und die Tara gleiches Volumen und übereinstimmenden Auftrieb zeigten. Geben *fl*, *pb*, *r* und *pt* die Gewichte des Tarafläschchens, des Bleischrotes, des Wägeröhrchens und des Platinschiffchens an, 2,45, 11,34, 2,45 und 21,45 die zugehörigen spezifischen Gewichte, so ergeben sich für die Berechnung die zwei Bedingungen $fl + pb = r + pt$ und

$$\frac{fl}{2{,}45} + \frac{pb}{11{,}34} = \frac{r}{2{,}45} + \frac{pt}{21{,}45}.$$

Daraus folgt

$$pb = pt\,\frac{1 - 2{,}45/21{,}45}{1 - 2{,}45/11{,}34} \quad \text{und} \quad fl = r + pt - pb.$$

Für $r = 3{,}5000$ und $pt = 0{,}5000$ ist $fl = 3{,}4350$ g und $pb = 0{,}5650$ g. Man wählt also ein Tarafläschchen, das leichter (womöglich wenig leichter) als 3,435 g ist und ergänzt das Gewicht mit einem Stück Glasstab oder mit Glaskugeln auf 3,435 g, darauf mit Bleischrot auf fast 4,000 g. Diese

Tara würde also einen vollständigen Ausgleich der Auftriebe bei jeder Luftdichte vermitteln.

Erwähnt sei, daß *H. Sternberg*[34] angibt, eine Gewichtszunahme von Bleischrot an feuchter Luft festgestellt zu haben. Es soll hier nicht entschieden werden, ob sich vielleicht ein Ersatz von Bleischrot etwa durch Drahtstücke von Silber (Dichte 10,50) oder dergleichen empfehlen würde.

Bei der Wägung von schwereren Glasgegenständen, z. B. Filterröhrchen, mit Tarafläschchen und Bleischrot führen derartige Betrachtungen zu einem sehr ungünstigen Ergebnis, ein Umstand, auf den schon in der Monographie[21] S. 276 und auch schon von anderer Seite[38] hingewiesen worden ist. Steht einem Filterröhrchen von 6 g Gewicht ein Fläschchen von 1 g mit 5 g Schrot gegenüber, so überwiegt der Auftrieb des ersteren um zirka 2 mg, eine Temperaturänderung von $\pm 1°$ täuscht eine Gewichtsänderung von $\pm 7\,\gamma$, eine Druckänderung von ∓ 4 mm eine solche von $\pm 10\,\gamma$ vor. Wie unmittelbar ersichtlich ist, würde hier eine Tara aus Glas allein, sei es ein Fläschchen mit großen Glaskugeln oder ein einziger kompakter Glaskörper, voll dem Zwecke entsprechen, während man in Anleitungen die Tarafläschchen in umgekehrtem Sinne als dünnwandig beschrieben findet. — Von Oberflächenwirkung ist hiebei abgesehen.

Dem Aluminium kommt in der Verwendung für Taragewichte neben anderem der Vorteil zu, daß es mit seiner Dichte (2,70 g/ccm) den wichtigen Werkstoffen Porzellan (2,3 bis 2,5), Quarzglas (2,20) und besonders Glas nahesteht. Es wird daher die Auffassung vertreten, daß bei einer Wägung vor allem von Glas mit Aluminium als Tara eine weitere Berücksichtigung des Luftauftriebes entfallen könne. Auch dieser Annahme kann nicht ohne jeden Vorbehalt beigestimmt werden. Für die Dichte von Glas läßt sich kein allgemein gültiger Wert angeben, für Natronglas kann man 2,45 g/ccm zugrunde legen. Der Auftrieb eines Glasgefäßes dieser Sorte im Gewicht von 5 g würde jenen der Aluminiumtara um $200\,\gamma$ überwiegen. Temperatur- und Druckschwankungen würden also Fehler gleichen Ausmaßes wie oben im Falle des Platinschiffchens von 0,5 g bewirken. Es ist im übrigen klar, daß in Fällen verhältnismäßig voluminöser Gegenstände wie in diesem Beispiel mit einer zutreffenden Wahl der Tara eine Bestimmung des spezifischen Gewichtes verbunden sein müßte, eine Forderung, die für den Zweck einer Dauereinrichtung kaum als Übertreibung ausgelegt werden könnte.

Den übrigen Wägungen der Mikroelementaranalyse steht die Wägung der Absorptionsröhrchen als Fall von besonderer Bedeutung gegenüber durch die Größe der Gewichte und Volumina wie auch durch das Eingreifen anderer gewichtiger Fehlerquellen. Die erstrebte Grenze der Genauigkeit wird hier mit $10\,\gamma$ angenommen, zweifellos nicht allein mit Rücksicht auf die verhältnismäßig günstigen Umrechnungsfaktoren für Kohlensäure und Wasser in C und H, sondern auch auf die erfahrungs-

mäßig geringere Genauigkeit der Wägungen. Die Frage ist Gegenstand eingehender Untersuchungen von *A. Friedrich*[12, 13] und seinem Mitarbeiter *H. Sternberg*[34] gewesen.

Der Auftrieb eines 11 g schweren Absorptionsröhrchens (angeführt als Kontrollröhrchen, s. u.) mit der „Dichte" von 1,6 zeigte nach *Friedrich* und *Sternberg* gegen eine übliche Schrottara von der „Dichte" 8 bei einer Temperatursteigerung von 1° eine Gewichtszunahme von 20 γ, bei einer Änderung des Luftdruckes um $\pm$ 1 mm eine Gewichtsänderung von $\mp$ 9 γ. Die Zahlen lassen auf ein Volumen des Röhrchens von 7 ccm schließen, in das der Hohlraum zwischen der Füllung eingerechnet ist. Nach den Maßangaben für Absorptionsröhrchen in *Pregl-Roth* und nach Ausmessung kann das Gesamtvolumen eines Natronasbeströhrchens (Glas- und Füllungsmaterial) auf 4,8 ccm geschätzt werden bei einem Gewicht von rund 10 g. Besteht die Tara aus 1 g Glas und 9 g Blei, so beläuft sich die scheinbare Gewichtsänderung bei einer Temperaturschwankung von $\pm$ 1° auf $\pm$ 15 γ, bei einer Druckänderung um $\pm$ 1 mm auf $\mp$ 6 γ. 2° Temperatur- oder 5 mm Druckschwankung rufen darnach bei 4 mg Substanz bereits Abweichungen von 0,2% C hervor.

Von Interesse ist, daß *Sternberg*[34] mit Rücksicht auf die Temperaturerhöhung von 0,3° und darüber, die im Innern der Waage durch die Körperwärme des Analytikers während der Wägung hervorgerufen wird, zur Anwendung einer Tara mit richtig eingehaltenem Volumen gelangt, um dieser während der Wägung selbst unterlaufenden Einwirkung zu begegnen.

Friedrich suchte einen beachtenswerten Ausweg in der Einführung eines dritten Absorptionsröhrchens, das im Versuch an die beiden üblichen Röhrchen angeschlossen wird und, von der Zufuhr von Kohlensäure und Wasser abgesehen, allen Einflüssen in gleicher Weise wie jene unterworfen ist. Die Gewichtsänderung dieses „Kontrollröhrchens" wird zur Berichtigung an den Gewichtszunahmen der beiden anderen Röhrchen verwertet, wobei die beiden Autoren einen schlagenden Erfolg in der Genauigkeit und Sicherheit der Analysen verzeichnen. Das Ergebnis wäre ein eindeutiger Beweis für das besondere Ausmaß der Fehler, die durch die Absorptionsröhrchen unterlaufen und zugleich für die Berechtigung der eingangs erwähnten eigenen Bestrebungen, die Bestimmungen auf maßanalytische Verfahren aufzubauen.

Da in der Beeinflussung des Auftriebes 1° Temperaturänderung angenähert 2,5 mm Druckänderung entsprechen, Temperaturschwankungen von einigen Graden aber zu den normalen Tageserscheinungen in Zimmern und Laboratoriumsräumen gehören, ist der Ausstattung der Waagenzimmer mit Temperaturregulierung, die im Laufe der Zeit zur Einführung gelangt ist, große Bedeutung auch mit Rücksicht auf den Auftrieb beizumessen. Dieser Nebenerfolg der Regulierung, die ausgleichende Wirkung auf den Luftauftrieb, der bisher kaum besonders beachtet worden zu sein scheint, dürfte namhaft zur Überwindung der anfänglichen Schwierigkeiten in der Mikroelementaranalyse beigetragen haben (vgl. S. 67).

Entsprechend der ungefähren Berücksichtigung des Auftriebes wird dem Einfluß des Feuchtigkeitsgehaltes der Luft auf dem vorliegenden Gebiete kaum eine Beachtung zugewendet. Als Maßstab sei angegeben, daß bei einem Volumenunterschied des Gegenstandes der Wägung und der Tara von 1 ccm im Temperaturbereich von 20° eine Erhöhung der relativen Feuchtigkeit um 10% eine Wirkung von 1 γ ausübt. In Waagenzimmern mit geregelter Beheizung wird man mit schroffen Änderungen der Luftfeuchtigkeit tatsächlich nicht zu rechnen haben. Die Wägung eines Körpers bei einem oder mehreren Kubikzentimetern Volumenunterschied würde aber folgerichtig auch eine Kontrolle der Feuchtigkeit erfordern, wenn die Genauigkeit von 1 γ erreicht werden soll, jedenfalls dann, wenn im gleichen Raum mit der Wirkung von offenen Gasflammen oder gar von kochendem Wasser zu rechnen ist.

Die Wirkung der Luftfeuchtigkeit auf Glasflächen und besonders auf hygroskopische Substanzen, die die tatsächlichen Gewichte und nicht die Wägungen selbst beeinflußt, soll nicht in den Bereich der vorliegenden Betrachtungen einbezogen werden. Es sei jedoch auf eine zusammenfassende Besprechung der für den Fall der Hygroskopizität ersonnenen Methoden und Behelfe von *H. K. Alber*[40] hingewiesen, die im Schrifttum leider nicht allgemein zugänglich sein dürfte.

C. Störungsfehler.

Vor den bisher besprochenen Fehlern der Wägung, die auf Unexaktheiten im Bau der Waage oder auf Ungleichmäßigkeiten des Auftriebes beruhen, treten in der Praxis Fehler durch äußere Störungen in den Vordergrund. Während sich die ersteren bei der Wägung größtenteils nicht bemerkbar machen, ungleiche Hebellängen, abweichende Empfindlichkeiten bei verschiedener Belastung, Teilungsfehler des Reiterlineals dem Analytiker bei jahrelangem Gebrauch der Waage verborgen bleiben können, mit Ausnahme der ungleichmäßigen Stellungen des Reiters in gleicher Kerbe, verursachen die letzteren (einschließlich der Stellungen des Reiters) die lästigen Unregelmäßigkeiten, die sich der Beobachtung aufdrängen und in der mikrochemischen Literatur auch den Hauptgegenstand der einschlägigen Besprechungen bilden. Die Erörterung soll sich hier auf kürzere Hinweise beschränken. Störungen durch elektrische Ladungen, vornehmlich an Glasgegenständen, durch klebende Belage an Arretierungskontakten oder durch Verstaubung sollen hier als selbstverständliche Unzulässigkeiten außer Betracht bleiben.

Die Ursachen der übrigen Störungen beruhen überwiegend auf Ungleichmäßigkeiten der Temperatur, zeitlich und örtlich genommen, auf Temperaturschwankungen und Temperaturgefällen. Die große Empfänglichkeit der mikrochemischen Waagen für Störungen im Vergleich zu den gewöhnlichen analytischen Waagen ist als zwangläufige Folge der hochgesteigerten Empfindlichkeit auszulegen, die ein zehn- oder hundert-

faches Reagieren auf kleine Gewichtsdifferenzen, aber in gleicher Weise auch auf Luftströmungen, ungleichmäßige Wärmeausdehnung des Balkens oder dergleichen äußern muß. Erscheinungen und Vorbeugungen stimmen im Wesen mit jenen bei feinen physikalischen Wägungen überein, doch ist aus der Literatur kaum ersichtlich, wie weit sich die Mikroelementaranalyse von jenem älteren Gebiet Rat geholt hat.

Die wesentlichen Richtlinien für die Aufstellung und Handhabung der Waage sind von *F. Pregl*[2] in der 1. Auflage seiner Monographie gegeben worden und mit Ergänzungen in die späteren Auflagen und in Anleitungen anderer Autoren übergegangen. Bezüglich weiterer Maßnahmen sei auf das Referat von *G. Gorbach*[14] über Mikrowaagen verwiesen. Eingehende Beobachtungen wurden u. a. von *M. Boëtius*[3] bekanntgegeben, eine besondere Bedeutung ist den Feststellungen *E. Schwarz-Bergkampfs*[33] über die Temperatureinflüsse und ihre Nachwirkungen beizulegen. Als wesentlichste Punkte dürften anzuführen sein: Aufstellung der Waage auf einer erschütterungsfreien Unterlage, Wahl eines sonnenlosen, am besten nordseitigen Zimmers, Vermeidung zu großer Nähe oder unsymmetrischer Anordnung mit Bezug auf die Waage von Fenstern, Öfen, Lichtquellen oder anderen Wärmeeinwirkungen. Ein besonders bedeutsamer Fortschritt ist unstreitig mit der Einführung automatisch geregelter Beheizung für Waagezimmer erreicht worden. Die Einschätzung störender Einflüsse hinsichtlich ihrer Bedeutung kann im übrigen zu widersprechenden Auffassungen führen. So nimmt *M. Boëtius*[3] mit Rücksicht auf die Lichtquelle genaueste Wägungen bei Tageslicht vor, während *O. Hönigschmid*[16] seine Präzisionswaage in einem fensterlosen Zimmer aufstellte.

Von allen Störungen, die die Genauigkeit der Wägungen beeinträchtigen, dürfte der Annäherung des Analytikers an die Waage und seinem Hantieren an der geöffneten Waage wegen ihrer Unvermeidbarkeit die größte und grundsätzlichste Bedeutung zukommen. Vergleicht man den Vorgang mit jenem *H. Landolts*,[18] der seine Waage mittels einer mechanischen Vorrichtung aus 3 m Abstand bediente und ablas, dabei aber einer Wärmeeinwirkung seines Körpers noch durch Abschirmung vorbeugte, so ist selbstverständlich sein höherer Anspruch an Genauigkeit gebührend zu berücksichtigen, noch schwerer aber ist der Gegensatz in der Beeinflussung der Waage zu veranschlagen. Die Störung der Waage durch die Körperwärme des Wägenden ist an sich bekannt und unbestritten, die Richtschnur, den Aufenthalt an der Waage zu beschränken, ist aber als unzulängliche Vorbeugung gekennzeichnet und sie ist nur in beschränktem Maße mit der Anforderung der Arbeit vereinbar. Ein teilweiser Vorteil durch geringere Annäherung wird bei Waagen mit vervollkommneten Ablesevorrichtungen und bei Dämpfungswaagen erreicht.

Eigene Erfahrungen besonderer Art wurden in größerem Ausmaß gesammelt bei den seinerzeitigen Analysen von Substanzen bis zur

untersten Menge von 1 mg,[21] die eine Wägung mit höchsterreichbarer Genauigkeit erforderten, und übereinstimmend wieder im Verlauf der vorangegangenen Untersuchungen über Wägungen, die auf die Erfassung kleinster Gewichtsdifferenzen von wenigen γ ausgingen.

Wiederholt man die Wägungen fortlaufend, um sich von ihrer Richtigkeit zu überzeugen oder verläßliche Mittelwerte zu erhalten, so kann man auf immer wiederkehrende, selbst zunehmende Schwankungen stoßen, die das Unternehmen als aussichtslos und die einmalige Wägung als zutreffender erscheinen lassen, in Übereinstimmung mit der Äußerung *B. Flaschenträgers*:[10] „Je länger eine Wägung dauert, desto schlechter wird sie." Trotzdem gelingt es, nötigenfalls mit Einschiebung von Pausen, in höchst mühevoller Arbeit zu gesicherten Mittelwerten zu gelangen. Solchen erzwungenen genauen Wägungen gegenüber haben die in den vorangehenden Abschnitten beschriebenen Versuche mit Vorrichtungen, die ein Öffnen der Waage zwischen den einzelnen Wägungen vermeiden ließen, einen merklichen Vorteil gebracht, ebenso wurden aber auch bessere Übereinstimmungen bei Wägungen mit Umgehung des Reitergewichtes erzielt. Es geht daraus hervor, daß Vorkehrungen zur Wägung, die eine weitgehende Einschränkung des Aufenthaltes unmittelbar an der Waage und der Manipulation an der offenen Waage erlauben würden, zwar einen merklichen, aber keinen ausschlaggebenden Fortschritt erwarten ließen, solange sich nicht auch die Fehler durch den Reiter beheben lassen. Eine derartige Vorrichtung müßte sich ersinnen lassen, scheint aber noch nicht versucht worden zu sein.

D. Beurteilung der Genauigkeit.

Erwägt man die Bedeutung der Mikroanalyse für Wissenschaft und Praxis und die Rolle, die den Waagen dabei zufällt, sowie den Umstand, daß sie uns zahlenmäßige Messungen vermitteln, so könnte man wohl das Vorliegen bestimmter Urteile über ihre Leistungsfähigkeit und über eine ungefähre Stufenfolge der verschiedenen Fabrikate voraussetzen. In Wahrheit kann zwar von einer Bevorzugung der einen oder anderen Bezugsquelle, doch nicht von Anhaltspunkten in Zahlen für einzelne Modelle verschiedener Ausführung und Herkunft gesprochen werden. Trotzdem dürfte die Aufzählung einer Reihe von Beurteilungen Interesse bieten.

F. Pregl[26] stellt in seiner Monographie von 1917 für die von Kuhlmann gelieferte mikrochemische Waage in klarer Weise fest: „Wir sind heute in der Lage, mit diesem Instrument das Gewicht auch bei der zulässigen Maximalbelastung von 20 g mit einer Genauigkeit von $\pm$ 0,001 mg mühelos festzustellen." *H. Roth*[29] läßt in der neuesten, von ihm bearbeiteten 5. Auflage (1947) für Maximalbelastung einen leichten Zweifel an der vollen Erreichbarkeit dieser Genauigkeit gelten, hält die Annahme *Pregls* aber ausdrücklich für den Fall von Differenzwägungen, z. B. für die Wägung der Analysensubstanz, fest.

F. Emich[6] drückt sich (1924) bezüglich der gleichen Waage vorsichtiger wie folgt aus: „Bei sorgfältiger Arbeit wird der Unterschied zweier aufeinanderfolgender (!) Wägungen nicht größer als 0,002 mg (= 2 γ) sein." „Daraus ist nicht zu folgern, daß man mit der Waage in der Lage sei, das Gewicht eines beliebigen Körpers tatsächlich auf 0,002 : 20.000 = 10^{-7} genau zu bestimmen." In der Angabe ist die wichtige Frage offen gelassen, ob der Reiter zwischen den zwei Wägungen neu aufgesetzt oder unberührt bleiben soll.

Weit abweichend lautet das Urteil von *F. Holtz*[15] 1925, der eine Ungenauigkeit von 5 γ bei Wägungen durch geübte Analytiker, ansonst eine solche von 10 γ voraussetzt.

B. Flaschenträger[10] schreibt der Kuhlmannschen Waage (1926) eine jahrelange reproduzierbare Genauigkeit von 3 bis 5 γ zu.

R. Thilenius und *R. Winzer*[36] stellten (1929) als Erfahrung aus Zehntausenden von Ablesungen an Mikrowaagen (ohne Angabe der Bezugsfirma) fest, daß eine höhere Sicherheit als $\pm$ 2 γ nicht erreichbar sei.

C. Weygand[37] spricht von der Kuhlmannschen und anderen mikrochemischen Waagen 1931, die er selbst kennengelernt habe, ohne einen Unterschied zwischen ihnen festzustellen. Es erscheint ihm nicht ausgeschlossen, daß unter Berücksichtigung aller Kautelen Platingefäße auf ein Tausendstel Milligramm gewogen werden können. Die Wägung auf 1 γ wird weiter als mühsam und nicht völlig sicher hingestellt. Als leicht wird die Wägung von 3 bis 4 mg Substanz in einem Platinschiffchen oder dergleichen auf 3 bis 4 γ bezeichnet. Der Fehler von 5 γ erscheint ihm zu hoch angenommen.

M. Boëtius,[3] ein besonderer Befürworter der Firma Kuhlmann, gibt keine Zahl für die Genauigkeit an (1931), weist aber u. a. auf Nullpunktverlagerungen in der Höhe von 6 bis 10 γ und darüber durch den störenden Einfluß des Analytikers auf die Waage hin. Die Annahme einer Genauigkeit von 1 oder 2 γ würde damit kaum in Einklang zu bringen sein.

A. Friedrich[11] bespricht die Waage von Kuhlmann und erwähnt in seiner Anleitung (1933) die Wägung auf 1 γ, ohne die Erreichbarkeit zu diskutieren. Von seinem Mitarbeiter *H. Sternberg*[34] wird von Waagentypen im allgemeinen gesprochen, die es erlauben, bei unmittelbar aufeinanderfolgenden Wägungen das Gewicht eines Körpers bis zur Maximalbelastung von 20 g mit einer Genauigkeit von $\pm$ 3 γ zu reproduzieren.

L. Ramberg[28] schließt, anscheinend nicht aus Erfahrung, sondern aus kritischen Erwägungen über die Unvollkommenheiten der Reitervorrichtung, auf Fehler von mehreren γ, jedenfalls bei der Kuhlmannwaage. Aber auch die Wägungsversuche von *J. Kuck* und *E. Löwenstein*[17] an einem Modell der Waage mit Stabreiter nach *Ramberg*, gebaut von der Firma Sartorius (1941), ließen Fehler von 5 γ bei einem Mittelwert von $\pm$ 2,6 γ hervortreten.

Benedetti-Pichler[1] stellt keine zahlenmäßige Angabe auf, sondern äußert sich so, daß man in der Mikrochemie Wägungen mit einer Genauigkeit von wenigen γ zu reproduzieren trachte (1936). Die Wägungen *Pregls* auf $\pm$ 1 γ seien als rasch aufeinanderfolgende Wägungen aufzufassen, die möglicherweise ohne Lüften und neuerliches Aufsetzen des Reiters ausgeführt wurden.

Nach *G. Gorbach*[14] strebt man in der Mikroelementaranalyse zu einer Genauigkeit von $\pm$ 2 γ zu gelangen. An anderer Stelle wird eine solche von 2 bis 3 γ als ausreichend bezeichnet (1936), die ein geübter Mikroanalytiker bei Einhaltung aller Vorsichtsmaßregeln, wenigstens bei der Einwaage nicht hygroskopischer Substanzen im Platinschiffchen zu erreichen vermöge.

C. J. van Nieuwenburg[25] nimmt im besonderen zur angeblichen Wägung auf $\pm$ 1 γ nach *H. Roth* (s. o.) Stellung (1936), die er als „nicht einmal im entferntesten" erreichbar hinstellt. Die Unannehmlichkeiten solcher Bemühungen und die damit verbundene „Nervenspannung" wird scharf betont.

H. K. Alber[40] scheint mit $\pm$ 2 γ „under certain conditions" zu rechnen (1936).

Von allgemeinerem Interesse sind in diesem Zusammenhang vergleichende Versuche von *M. Corner* und *H. Hunter*[5] an acht Waagen (1941), wovon eine von Sartorius, fünf von der Firma Oertling und zwei von Kuhlmann stammten. Ohne wesentliche Unterschiede zwischen den einzelnen Instrumenten wurde bei allen eine mittlere Genauigkeit von $\pm$ 3 γ festgestellt.

Es sei zum Schluß noch die eigene Schätzung der bestenfalls erreichbaren Genauigkeit angeführt, die auf Grund der eigenen Erfahrungen bei der Ausarbeitung des maßanalytischen Analysenverfahrens und bei den umfassenden Versuchen über Fehlerquellen in der Monographie von 1935, S. 32,[21] aufgestellt wurde. Der Beurteilung liegt hier hauptsächlich die Waage von Starke & Kammerer zugrunde. Das Ergebnis war, man werde bei Wägungen im Gewichtsbereiche einer Analysensubstanz (bis zu 10 mg) unter günstigen Voraussetzungen (stabiles Gleichgewicht der Waage, d. h. Ausbleiben von Nullpunktverschiebungen) eine Genauigkeit von $\pm$ 2 bis 3 γ als erreichbar betrachten dürfen, nicht dem wahren Gewichte nach, sondern auf den Reiter als Normalgewicht bezogen. Auch gelte die Schätzung nur für den Durchschnitt, ohne eine Gewähr für den einzelnen Fall zu geben. Das Urteil würde bei einer Schätzung nach den neuen Erfahrungen eher etwas ungünstiger ausfallen, wobei zum Teil der größeren Unsicherheit im Sitze des Reiters (vgl. S. 80 u. 81) und der rascheren Ermüdbarkeit der Waage eine Bedeutung zukommen könnte. Festzustellen ist aber dabei, daß diese Schätzung hauptsächlich eigentlich nur die oben erwähnten Störungsfehler und die Reproduktionsfehler im Sinne *Rambergs* zum Gegenstand hat. Daß es sich nur um den Durchschnitt ohne Gewähr für den einzelnen Fall handelt, liegt am möglichen Zusammentreffen mehrerer störender Einflüsse mit gleichen Vorzeichen und am möglichen Hinzutreten größerer Fehler, die auf Unexaktheiten der Waage oder auch auf Auftrieb beruhen.

Es kann angenommen werden, daß sich auch die Beurteilungen von anderer Seite nur auf die beobachtbaren Unregelmäßigkeiten stützen und daß die Angaben, wie zum Teil wörtlich zum Ausdruck gebracht wird, allgemein nur die Reproduzierbarkeit betreffen. Die mangelnde Reproduzierbarkeit zeigt nur zum Teil das Ausmaß der möglichen Abweichungen in den Wägungen auf, kommt aber der Größenordnung nach anscheinend den durchschnittlichen Wägungsfehlern nahe.

Die Vielfalt der Fehlerquellen läßt einen weitgehenden gegenseitigen Ausgleich nach den Gesetzen der Wahrscheinlichkeit im allgemeinen voraussehen, doch so, daß bei fallweisem Zusammenwirken einer Mehr-

zahl von Einflüssen im gleichen Sinne die Möglichkeit von größeren Fehlern selbst ohne Eingreifen besonderer Störungen gegeben sein kann. Ein einfacher Vergleich zwischen den verschiedenen Ungenauigkeiten der Wägungen nach sämtlichen vorangegangenen Betrachtungen und der praktisch erreichbaren Genauigkeit der Analysen anderseits kann daher nicht gezogen werden und eine Summierung der ersteren würde ein falsches, unwahrscheinliches Bild ergeben, um so mehr, da es sich dort um die möglichen Fehler unter extremen Umständen handelte. Es ist auch für die Richtigkeit der Analysenergebnisse in Prozenten die theoretisch richtige Bestimmung der Massen von Substanz und Reaktionsprodukt (vgl. S. 72) nicht erforderlich, sofern die Wägungen nur unter sich vergleichbar sind.

Beurteilt man die erforderliche Genauigkeit der Substanzwägung für den Fall der Kohlenstoffbestimmung nach der normalen Genauigkeit der Analysen, so gelangt man zu einem Spielraum von etwa ± 3 bis $\pm 4\,\gamma$ bei Substanzmengen von 3 bis 4 mg und bei einem Kohlenstoffgehalt von 90 bis 100%, wobei die Überführung in Kohlendioxyd als nahezu theoretisch angenommen ist. Bei 40% Kohlenstoffgehalt erweitert sich der Spielraum auf $\pm 10\,\gamma$. (Bei Wasserstoff ist der überwiegende Anteil des zulässigen Fehlers von $\pm$ 0,2% auf die rohe Erfassung des Wassers im üblichen Verfahren zurückzuführen und es konnte im maßanalytischen Verfahren[21] eine Verschärfung auf etwa $\pm$ 0,02% erzielt werden.) Das Ergebnis steht mit den minder anspruchsvollen Schätzungen der obigen Aufzählung in hinreichender Übereinstimmung und dürfte bei ihrer Aufstellung zum Teil mitberücksichtigt worden sein. Es muß hiebei hervorgehoben werden, daß die Annahmen von $\pm 1\,\gamma$ und von ± 3 bis $4\,\gamma$ als Wägungsfehler bereits als weit voneinander abweichende Urteile zu bewerten sind.

Die erreichbare Genauigkeit von ungefähr ± 3 oder $\pm 4\,\gamma$, in günstigsten Fällen vielleicht $\pm 2\,\gamma$, bei der Wägung kleiner Substanzmengen muß anscheinend allen mikrochemischen Waagen vom „Kuhlmanntyp" zugeschrieben werden, die sich bei der üblichen Wägetechnik mit annähernder Übereinstimmung für die Wägung weniger Milligramme von Substanz als geeignet erweisen, einem Übergang zu 1 mg aber auch nach Zugabe *H. Roths*[2] nicht mehr zu folgen vermögen. Das soll nicht ausschließen, daß zwischen einzelnen Instrumenten beträchtliche Unterschiede in der Güte auftreten können. Wird die angenommene Genauigkeit ferner erreicht, indem sich mehrere fehlerhafte Wirkungen im allgemeinen zum größeren Teil kompensieren, so steht auch fest, daß mit einzelnen Vervollkommnungen des Mechanismus kein durchgreifender Erfolg erzielt werden kann. Es scheint mit diesen Waagen von 20 g Maximalbelastung eine Grenze der Leistungsfähigkeit erreicht zu sein, wofür auch der Umstand spricht, daß trotz der außerordentlichen Be-

deutung der Frage seit dem ersten Unternehmen *Pregls* kein wesentlicher Fortschritt in dieser Hinsicht zu verzeichnen ist. Für das Vorliegen einer solchen Grenze spricht in anderer Art auch der überraschende, von *Benedetti-Pichler*[2] veranlaßte Versuch amerikanischer Mikrochemiker,[24] für die Einführung in die Mikroanalyse an Stelle der kostspieligen Spezialwaagen gewöhnliche Analysenwaagen mit einer gewissen Umgestaltung der Reitervorrichtung in Verwendung zu nehmen. Die Erfolge lassen, ohne zwar den Ansprüchen an die Mikroanalyse in Wissenschaft und Technik zu genügen, doch erkennen, daß zwischen den analytischen und mikrochemischen Waagen nicht der übergroße Unterschied besteht, der der herrschenden Auffassung entspräche. Einer weiteren Entwicklung der Mikroelementaranalyse in der Richtung eines noch geringeren Substanzbedarfes ist damit eine vorläufig schwer überschreitbare Grenze gezogen. Die Mehrzahl der Mikrochemiker wird darüber hinaus zugeben, daß eine Waage, die eine sicherere und minder mühevolle Wägung gestattete, bereits auch auf dem Boden der derzeitigen Mikroanalyse einem Bedürfnis entspräche.

Zusammenfassung.

Die Unsicherheiten der Wägungen mit mikrochemischen Waagen wurden nach praktischen Erfahrungen, nach physikalischen Erwägungen und nach eigenen Versuchen an einer Waage dieses Typs eingehend erörtert. Ein besonderes Augenmerk wurde der Möglichkeit eines Überganges zur Wägung von Analysensubstanz in der Menge eines Milligramms und darunter zugewendet.

Ursachen von Ungenauigkeiten, die schon im einzelnen über das Maß von 1 γ merklich, zum Teil unter ungünstigen Umständen um ein Mehrfaches hinausgehen, lassen sich in beträchtlicher Zahl in Unvollkommenheiten des Mechanismus der Waage, in unzulänglicher Berücksichtigung des Luftauftriebes und in Störungen der Wägung durch äußere Einflüsse nachweisen. Müssen auffälligere Fehler infolge eines Mangels im Mechanismus zwar als individuell für die untersuchte Waage angenommen werden, so sind doch die Feststellungen im übrigen als Wiedergabe des allgemeinen Sachverhaltes auf dem Gebiete der Wägungen zu betrachten. Da andererseits die Abweichungen beim Wägen der Analysensubstanzen in einem Bereich von weniger als $+5$ und $-5\,\gamma$ liegen, muß bei diesen Gewichtsbestimmungen der stets gegebenen Wahrscheinlichkeit eines größeren oder geringeren Ausgleiches von Fehlern entgegengesetzten Vorzeichens eine Bedeutung zukommen. Bei dieser Lage läßt sich aus einzelnen Vervollkommnungen mit Verminderung der einen oder anderen Fehlerquelle kein ausschlaggebender Fortschritt erwarten, der bei Beibehaltung der heute eingeführten Waagentype die Wägung beträchtlich kleinerer Substanzmengen ermöglichen würde.

Literatur.

[1] *A. A. Benedetti-Pichler*, Ind. Engin. Chem. Analyt. Edit. **8**, 373 (1936).
[2] *A. A. Benedetti-Pichler*, Ind. Engin. Chem. Analyt. Edit. **11**, 226 (1939). Siehe auch Mikrochem. **25**, 390 (1936) und **27**, 339 (1939).
[3] *M. Boëtius*, Über die Fehlerquellen bei der mikroanalytischen Bestimmung des Kohlen- und Wasserstoffes nach der Methode von Fritz Pregl. Berlin 1931.
[4] *G. Bruhns*, Z. angew. Chem. **42**, 645 (1929) und Zbl. Zuckerind. **38**, 288 (1930) nach C. 1930 I 2768.
[5] *M. Corner* und *H. Hunter*, Analyst **66**, 149 (1941) nach C. 1943 I 1589.
[6] *F. Emich*, Lehrbuch der Mikrochemie. 2. Aufl. München 1926.
[7] *F. Emich*, Mikrochemisches Praktikum. München 1924.
[8] *W. Felgenträger*, Feine Waagen, Wägungen und Gewichte. 2. Aufl. Berlin 1932.
[9] *W. Felgenträger*, Z. analyt. Chem. **88**, 422 (1931).
[10] *B. Flaschenträger*, Z. angew. Chem. **39**, 717 (1926).
[11] *A. Friedrich*, Die Praxis der quantitativen organischen Mikroanalyse. Leipzig-Wien 1933.
[12] *A. Friedrich*, Mikrochem. **19**, 23 (1935/36).
[13] *A. Friedrich* und *H. Sternberg*, Mikrochem., Molisch-Festschrift 118 (1936).
[14] *G. Gorbach*, Mikrochem. **20**, 254 (1936).
[15] *F. Holtz* und *W. H. F. Kuhlmann*, Ber. dtsch. chem. Ges. **58**, 266, 961, 1924 (1925).
[16] *O. Hönigschmid*, *E. Zintl* und *P. Thilo*, Z. anorg. allg. Chem. **163**, 65 (1927).
[17] *J. Kuck* und *E. Löwenstein*, J. Chem. Educat. **17**, 171 (1940).
[18] *H. Landolt*, Abh. preuß. Akad. Wiss. **1910**, 43.
[19] *H. Lieb* und *A. Soltys*, Mikrochem., Molisch-Festschr. 290 (1936).
[20] *J. Lindner*, Ber. dtsch. chem. Ges. **55**, 2025 (1922), Z. analyt. Chem. **66**, 305 (1925). — Über Fehlerquellen: Ber. dtsch. chem. Ges. **59**, 2561 u. 2806 (1926); **60**, 124 (1927); **63**, 949, 1123, 1396 u. 1672 (1930); **64**, 1560 (1931); **65**, 1696 (1932); **67**, 1652 (1934); **76**, 701 (1943).
[21] *J. Lindner*, Mikromaßanalytische Bestimmung des Kohlenstoffes und Wasserstoffes mit grundlegender Behandlung der Fehlerquellen in der Elementaranalyse. Berlin 1935.
[22] *R. Meyer* und *F. Struwe*, Z. angew. Chem. **43**, 928 (1930).
[23] *J. B. Niederl* und *J. R. Meadow*, Mikrochem. **9**, 350 (1931).
[24] *J. B. Niederl*, *V. Niederl*, *R. H. Nagel* und *A. A. Benedetti-Pichler*, Ind. Engin. Chem. analyt. Ed. **11**, 412 (1939).
[25] *C. J. van Nieuwenburg*, Mikrochem. **21**, 184 (1936/37).
[26] *F. Pregl*, Die quantitative organische Mikroanalyse. 1. Aufl. Berlin 1917. 5. Aufl. von *H. Roth*. Wien 1947.
[27] *F. Pregl*, Abderhalden. Handb. biochem. Arbeitsmethoden. Bd. **5** II. Wien-Berlin 1912. 1307.
[28] *L. Ramberg*, Ark. Kem., Mineral. Geol., Ser. A 11 Nr. **7** (1933).
[29] *H. Roth*, siehe u. 26.
[30] *G. Schmerwitz*, Physik. Z. **33**, 234 (1932).
[31] *N. Schoorl*, Z. analyt. Chem. **57**, 209 (1918).
[32] *N. Schoorl*, Chemiker-Ztg. **54**, 133 (1930).
[33] *E. Schwarz-Bergkampf*, Z. analyt. Chem. **69**, 321 (1926).
[34] *H. Sternberg*, Mikrochem. **22**, 187 (1937).

[35] *A. Thiel*, Chemiker-Ztg. **53**, 813 (1929) und **54**, 617 (1930).
[36] *R. Thilenius* und *R. Winzer*, Z. angew. Chem. **42**, 284 (1929).
[37] *C. Weygand*, Quantitative analytische Mikromethoden der organischen Chemie in vergleichender Darstellung. Leipzig 1931.
[38] *R. J. Williams*. Ind. Engin. Chem. Analyt. Edit. **8**, 229 (1936).
[39] *W. Zimmermann*, Mikrochem. **31**, 149 (1944).
[40] *H. K. Alber*, Introduction to the use and care of the microchemical balance, with a review of the weighing tools and of the methods of weighing solid and liquid compounds. Mimeographed outline. Copyrighted 1936, Washington D. C. nach Mikrochem. **25**, 47 (1938).

Buchbesprechungen.

L. und *A. Kofler*: **Mikromethoden zur Kennzeichnung organischer Stoffe und Stoffgemische.** Mit 129 Abb. i. Text, 8 Taf. und umfangreichen Tabellen. VIII, 337 S. Innsbruck: Universitätsverlag Wagner, Ges. m. b. H., 1948. Geb. S 65,—, sfr. 28,—.

Den Ausgangspunkt und die Grundlage der beschriebenen Methoden bildet die Schmelzpunktbestimmung unter dem Mikroskop. Der geringe Substanzverbrauch ist dabei nur *einer* der vielen Vorteile der Mikro- gegenüber der Makromethode. Denn unter dem Mikroskop läßt sich das Verhalten jedes einzelnen Kriställchens *vor, bei und nach* dem Schmelzen genau verfolgen und dadurch eine Reihe kennzeichnender Eigenschaften einer Substanz feststellen, die bei der Makrobestimmung der Beobachtung entgehen.

Die mikroskopische Beobachtung ermöglicht eine sehr empfindliche Beurteilung der *Reinheit*. Organische Präparate, die bei der Schmelzpunktbestimmung im Kapillarröhrchen den Eindruck vollständiger Reinheit machen, erweisen sich bei der Prüfung mit Hilfe der Mikromethoden häufig als mehr oder weniger stark verunreinigt.

Unter dem Mikroskop kann man ferner in einfacher Weise *eutektische Temperaturen* ermitteln. Damit eröffnet sich eine fast unbegrenzte Möglichkeit zur *Identifizierung* organischer Substanzen. In Verbindung mit der „Absaugmethode" ergibt sich dadurch ein neuer vielversprechender Weg zur Untersuchung und Trennung von Gemischen.

Weiterhin läßt sich mit Hilfe einer Skala von Glaspulvern mit bekannten Brechungsexponenten die *Lichtbrechung* von Schmelzen bestimmen. Dies dient einerseits zur Kennzeichnung und Identifizierung von Substanzen, anderseits zur Gehaltsbestimmung von Gemischen.

Die 110 Seiten umfassenden *Tabellen* enthalten für ungefähr 1000 Substanzen die Schmelzpunkte, die eutektischen Temperaturen mit zwei verschiedenen Testsubstanzen, die Lichtbrechung der Schmelze und die Eigenschaften, die bei der Schmelzpunkt-Mikrobestimmung jeweils am meisten auffallen. Diese Tabellen beinhalten zahlreiche bisher noch unbekannte Eigenschaften organischer Substanzen und bilden eine Fundgrube für weitere Untersuchungen.

Ein eigener Abschnitt behandelt die *Molekulargewichtsbestimmung* unter dem Miskroskop.

Mikromethoden können mit großem Erfolg auch auf die *Thermoanalyse* angewendet werden. Die von *A. Kofler* ausgearbeitete „Kontaktmethode" ermöglicht mit einem einzigen mikroskopischen Präparat in wenigen Minuten eine „qualitative Analyse" eines organischen Zweistoffsystems. Dadurch läßt sich die Frage, ob zwei Stoffe miteinander ein einfaches Eutektikum, Molekülverbindungen oder Mischkristalle bilden, ohne Aufnahme eines Schmelzdiagramms beantworten. Will man zum Studium der quantitativen

Verhältnisse ein Schmelzdiagramm aufnehmen, so sind auch hiefür die mikroskopischen Methoden einfacher und leistungsfähiger als die klassischen Methoden der Thermoanalyse. Bei den mit Hilfe der Mikromethoden durchgeführten Untersuchungen ergab sich, daß die Schmelzdiagramme organischer Zweistoffsysteme infolge der früher zu wenig beachteten Polymorphie und Isopolymorphie oft viel komplizierter sind, als bisher angenommen wurde.

Sorgfältig ausgewählte Übungsbeispiele ermöglichen ein Einarbeiten in die verschiedenen in dem Buch beschriebenen Methoden.

Dem übersichtlich und klar geschriebenen und auch äußerlich gut ausgestatteten Buch ist weiteste Verbreitung zu wünschen. Für alle Arbeitsgebiete des organischen Chemikers, wie Synthesen, Isolierung von Naturstoffen, Analysen, Betriebskontrollen, biochemische, medizinisch-chemische und pharmazeutisch-chemische Arbeiten, sowie für forensische Untersuchungen, ist es von größtem Vorteil, Mikromethoden zu verwenden, die eine rasche und zuverlässige Kennzeichnung organischer Stoffe und Stoffgemische gewährleisten. *R. Fischer*-Graz.

F. Pregl: **Quantitative organische Mikroanalyse.** 5. Aufl. Nach dem gegenwärtigen Stand der Forschung und Praxis bearbeitet von Dr. *H. Roth*. Mit 80 Abb. XII, 317 S. Wien: Springer-Verlag, 1947. Geb. S 60.—, sfr. 32,—.

Nach einer Pause von 12 Jahren ist dieses Standardwerk des Mikroanalytikers in 5. Auflage neu erschienen. Die Bearbeitung hat wiederum, wie schon die der 4. Auflage, *H. Roth* übernommen.

Der Name *Pregls*, der immer noch an erster Stelle des Buches steht, verpflichtet den Bearbeiter zu einer pietätvollen Bewahrung des von *Pregl* Geschaffenen, ohne dabei die großen Fortschritte auf mikroanalytischem Gebiet außer acht zu lassen, die inzwischen erzielt worden sind.

Dieses Bestreben geht klar aus dem ganzen Aufbau des Buches hervor. Die didaktisch hervorragende Form, wie sie von *Pregl* selbst schon in seiner 1. Auflage im Jahre 1917 gewählt worden war, ist im großen und ganzen beibehalten worden. Das Buch ist deshalb ein ausgezeichnetes „Lern"buch geblieben, mit dessen Hilfe ein Anfänger in der Mikroelementaranalyse, bei nur einigermaßen gutem Willen, selbständig und ohne fremde Anleitung zum Erfolg kommen muß.

Diese Absicht und der Zwang, aus der lawinenartig angeschwollenen mikroanalytischen Literatur nur das Beste herauszuholen, hat allerdings bewirkt, daß in dem Buche manche gute Methode zu kurz gekommen oder nur in der Form eines Literaturzitates erwähnt ist. Das Schrifttum über mikroanalytische Arbeiten hat einen derartigen Umfang angenommen, daß einem Autor fast nur übrig bleibt, entweder ohne kritische Sichtung, ein vielbändiges Werk zu schreiben oder aber sich auf die Auswahl weniger, wenn möglich von ihm selbst erprobter Methoden zu beschränken.

H. Roth hat einen Mittelweg gesucht und gefunden. In jedem Kapitel befindet sich eine Literaturzusammenstellung über die jeweils behandelten Elemente oder Gruppen, in welcher eine historisch aufgebaute, kritische Würdigung der bekannt gewordenen Methoden vorgenommen wird und aus der auch vielfach die Begründung für die Wahl der anschließend in allen Einzelheiten beschriebenen Arbeitsmethoden hervorgeht. Nunmehr kann der „*Pregl-Roth*" in seiner neuen Auflage — schon immer für den Anfänger ein unentbehrliches Lehrbuch der *Pregl*'schen Mikroanalyse — auch dem Forscher als umfassendes Nachschlagewerk über das gesamte Gebiet dienen. Die

zeitbedingten Schwierigkeiten, die bei der Abfassung der Neuauflage geherrscht haben und auch heute noch bestehen, lassen es allerdings fraglich erscheinen, ob die gesamte Weltliteratur berücksichtigt wurde; insbesondere dürften die amerikanischen Veröffentlichungen der Kriegsjahre nur lückenhaft Aufnahme gefunden haben. Eine Beurteilung ist leider auch heute noch nicht möglich, so daß sich der Referent hierüber einer Kritik enthalten muß.

Die beschriebenen Methoden gliedern sich in die eigentlichen Verbrennungsanalysen (zur Bestimmung von Elementen), in die Bestimmung von generellen Gruppen und physikalischer Konstanten. Im Prinzip sind die elementaranalytischen Methoden, d. h. die Bestimmung des Kohlenstoffs, Wasserstoffs, Stickstoffs, der Halogene, des Schwefels, Phosphors, Arsens, Quecksilbers und der Metalle im wesentlichen unverändert erhalten geblieben. Einzelne Bestimmungsmethoden, wie die gravimetrische Bestimmung des Arsens nach *H. Lieb* wurde fallen gelassen, so daß nur noch die maßanalytische Methode von *O. Wintersteiner* vorliegt und die Bestimmung des Quecksilbers nach *A. Meixner* und *K. Kröcker* wurde durch das verbesserte Verfahren von *M. Boetius* ersetzt. Erweiterungen haben erfahren das Kapitel über die Schwefelbestimmung, wo, unter Verzicht auf den Carius-Aufschluß, neben der gravimetrischen Perlenrohrmethode von *Pregl* die maßanalytische Schnellmethode von *W. Zimmermann* Aufnahme gefunden hat, und im Kapitel „Phosphor" ist zu der gravimetrischen Methode von *H. Lieb* die kolorimetrische Bestimmung nach dem Prinzip von *A. E. Taylor* und *C. W. Miller* von *H. Roth* neu hinzugekommen. Nachdem viele Mikrolaboratorien sich bei der Kjeldahl-Bestimmung des Destillationsapparates von *Parnas* und *Wagner* bedienen, wäre es zweckmäßig gewesen, diesen Apparat neben der Apparatur von *H. Roth* in der Neuauflage beizubehalten.

Ein vollkommen neues und in seiner Wichtigkeit nicht hoch genug einzuschätzendes Kapitel ist der direkten Bestimmung des Sauerstoffes in organischen Substanzen gewidmet. Dieses Problem, das den Analytiker schon ein Jahrhundert lang in Atem hielt, ist jetzt in vollendetster Weise zuerst von *M. Schütze* in einer Halbmikromethode, dann von *W. Zimmermann* in einer automatischen Mikromethode und schließlich von *J. Unterzaucher* in einer blindwertfreien Präzisionsmethode gelöst worden, die zur Halbmikro-, Mikro- und Spurensauerstoffbestimmung in gleicher Weise geeignet ist. Das *Schütze*sche Verfahren ist in der Methode von *Unterzaucher* eingehend dargelegt worden.

Die Beschreibung der Bestimmungsmethoden für generelle Gruppen ist, unter Einhaltung neuerer Literatur, fast unverändert beibehalten worden. Es werden aufgeführt: Mikroäquivalentbestimmung, Titration von Aminosäuren, Bestimmung des aktiven Wasserstoffs (Mikro-Zerewitinoff), Bestimmung primärer Aminogruppen (Mikro-van Slyke), Bestimmung von Alkoxyl- und S-Methylgruppen (Mikro-Zeisel), Alkylimidgruppen-, Acetylgruppen-, C-Methylgruppen- und Isopropylidengruppenbestimmungen und schließlich die Bestimmung der Doppelbindungszahl durch katalytische Hydrierung.

Nahezu alle beschriebenen Methoden sind in ihrem Chemismus schon von der Makroanalyse her bekannt und unumstritten, so daß das Hauptgewicht auf die mikro-apparative Ausgestaltung gelegt werden konnte. Es wäre deshalb wünschenswert gewesen, einige wenige Methoden durch Aufnahme und eingehende Beschreibung einer zweiten Apparatur zu vervollständigen und sie dem Analytiker zur Wahl zu stellen; so findet man den schönen Apparat von *A. Soltys* zur Bestimmung des aktiven Wasserstoffs nur kurz

zitiert, obwohl er trotz seines (konstanten) Blindwertes für Einzel- und Serienbestimmungen sehr geeignet ist. Auch der Destillationsapparat von *E. Wiesenberger* für die Acetylbestimmung wird in einer Neuauflage eine eingehendere Würdigung erfahren müssen; es wäre auch zu begrüßen, wenn die auf differentialmanometrischer Messung beruhende Apparatur zur katalytischen Mikrohydrierung nach *R. Kuhn* und *E. F. Möller* durch die Beschreibung einer zweiten, einfacheren eventuell auf volumetrischer Messung beruhenden Apparatur erweitert würde. Kurze Hinweise auf die Bestimmung von Kennzahlen, wie Säurezahl, Verseifungszahl, Jodzahl, Dienzahl, Rhodanzahl und Acetylzahl am Schluß des Buches ermöglichen das schnelle Auffinden der Originalarbeiten; es wäre zu wünschen, daß sich die Fachgenossen dieser wichtigen Bestimmungsgruppe noch etwas mehr als bisher annehmen, damit bei einer Neuauflage gut durchgearbeitete und allgemein anwendbare Arbeitsvorschriften gegeben werden könnten.

Der dritte Hauptabschnitt behandelt die Bestimmung physikalischer Konstanten. Eingehender als in der 4. Auflage werden von *A. Kofler*, Innsbruck, die Methoden der mikroskopischen Schmelzpunktsbestimmung dargelegt. Die Bestimmung des Siedepunktes nach dem Prinzip von *A. Schleiermacher* in der Ausführung von *H. Roth*, die Bestimmung des Drehungsvermögens und der Molekularrefraktion werden in kurzer, aber erschöpfender Form abgehandelt.

Der Abschnitt über die Bestimmung des Molekulargewichts ist vollkommen neu bearbeitet worden. Erfreulicherweise hat sich der Autor dazu entschließen können, die schwierige ebullioskopische Methode ganz fallen zu lassen und dafür die kryoskopische Methode nach *Rast* in wesentlich erweitertem Ausmaß zu bringen. In übersichtlicher tabellarischer Form werden 27 geeignete Lösungsmittel mit allen notwendigen Daten aufgeführt. Die Zusammenfassung der in der Literatur bisher verstreut gewesenen Angaben erweitert und erleichtert die Anwendbarkeit dieser Methode. Die osmotische Molekulargewichtsmethode nach *G. Barger* ist unverändert beibehalten worden.

Einige Rechenhilfsmittel, Bezugsquellennachweis, Buch- und Sachverzeichnis ergänzen und beschließen das Buch.

Wie der Verfasser im Vorwort richtig sagt, waren die Voraussetzungen für eine ruhige Arbeit bei der Abfassung der Neuauflage nicht gegeben. Dieselbe Feststellung gilt aber auch für die technische Fertigstellung des Buches durch den Springer-Verlag, Wien. Um so anerkennenswerter ist es, daß auch die Ausstattung den Anforderungen der heutigen Zeit vollauf entspricht. *W. Zimmermann*-Ludwigshafen/Rhein.

Edward J. Conway: **Micro-Diffusion Analysis and Volumetric Error.** Mit 55 Abb. XIX, 357 S. London: Crosby Lockwood & Son Ltd., 1947. 21/— net.

Die allgemein bekannte Bedeutung mikrochemischer Methoden für Zwecke der modernen biologischen Forschung wird durch die von dem Verfasser und seinen Mitarbeitern entwickelten Verfahren wesentlich gesteigert. Diese beruhen grundsätzlich auf der Vermeidung von Destillationen zur Bestimmung flüchtiger Produkte; statt dessen diffundieren diese aus Lösungen, welche eine gewisse Dampftension des gesuchten Stoffes zulassen, in eine Absorptionsflüssigkeit, in welcher diese Stoffe keinen Dampfdruck mehr aufweisen. Die Kenntnis optimaler Diffusionsbedingungen und die Verwendung höchst einfacher Geräte gewährleisten bei minimalem Zeit- und Materialaufwand

hervorragend genaue Analysenergebnisse, ohne an die Geschicklichkeit des Analytikers besondere Anforderungen zu stellen.

Das als „Standard unit" bezeichnete und für alle derartigen Verfahren anwendbare Gerät besteht aus einer Schale mit zwei konzentrisch angeordneten senkrechten Wandungen nach Art der Petrischalen. Die innere Wandung ist einige Millimeter niedriger als die äußere und umfaßt die Absorptionsflüssigkeit. Der Ring zwischen innerer und äußerer Wandung dient zur Aufnahme der Untersuchungslösung, aus welcher der gesuchte Stoff gasförmig in Freiheit gesetzt wird. Das ganze Gefäß wird mit einer dicht schließenden Glasplatte bedeckt und entweder bei normaler Temperatur oder im Brutschrank sich selbst überlassen. Nach Beendigung der Diffusion wird maßanalytisch die Menge des absorbierten Gases bestimmt. Bei gleichzeitiger Verwendung von modernen Flüssigkeitsmeßgeräten, wie sie vom Verfasser, aber auch von *Linderstrøm-Lang* und *Holter* und anderen angegeben werden, können außerordentlich geringe Mengen — Bruchteile von Mikrogrammen — genau erfaßt werden. Die Einzelheiten des sehr exakt und gewissenhaft ausgearbeiteten Verfahrens sind ausführlich und übersichtlich dargestellt.

Der zweite Teil des Buches beschäftigt sich mit der Anwendung des geschilderten analytischen Prinzips auf die Bestimmung einer großen Zahl von biochemisch und medizinisch wichtigen Substanzen. Nach eingehender Beschreibung der Ammoniakbestimmung entweder unter Verwendung von Salzsäure oder von Borsäure als Absorptionsmittel, deren Wahl sich vor allem nach der Menge des zu ermittelnden Stickstoffs richtet — beide Verfahren haben ihre Vorteile — und Besprechung besonderer, die Ammoniakabsorption beeinflußender Umstände gibt der Verfasser genaue Anweisungen für die Anwendung bei der Untersuchung von biologischem Material hinsichtlich der verschiedenen darin enthaltenen Stickstofffraktionen. Vier weitere Kapitel bringen die Vorschriften zur Ermittlung des Halogengehaltes. Durch Variation der Säurekonzentration und des Oxydationsmittels gelingt es, Chlor, Brom und Jod nebeneinander durch Mikrodiffusionsanalyse in sehr geringen Mengen zu bestimmen. Die Absorption von Kohlendioxyd in Barytlauge und dessen darauf folgende Titration gibt die Grundlage nicht nur für die Bestimmung von Carbonaten und Bicarbonaten, sondern über den Umweg der Gärung auch von vergärbaren Zuckern, von Carboanhydrase u. a. Die Bildung von Bisulfitanlagerungsverbindungen ermöglicht die Analyse von Flüssigkeiten und Geweben, die Aceton, Acetaldehyd, Milchsäure, Threonin u. dgl. enthalten. Schließlich findet dieses Verfahren auch Anwendung auf die Bestimmung von Äthylalkohol und Kohlenoxyd im Blut; darüber hinaus wird sich wohl so mancher andere Bestandteil des gesunden und kranken Organismus nach diesem Prinzip in der Zukunft analysieren lassen.

Der dritte Teil des Buches ist der Erörterung maßanalytischer Fehler gewidmet, deren Ausmaß bei den hier üblichen Größenordnungen nicht mehr außer acht gelassen werden kann. Sowohl die Meßgeräte selbst und ihre physikalischen Beziehungen zu den daraus zu entnehmenden Flüssigkeiten bedingen konstante und variable Fehler wie auch die chemische und physikalische Beschaffenheit der angewandten Lösungen. Der jeweilige Gesamtfehler setzt sich aus diesen zusammen, stellt aber nur zum Teil die arithmetische Summe dieser Faktoren und zum andern Teil eine Funktion der einzelnen Komponenten dar. Die Ableitung und Darstellung dieser Verhältnisse soll vor allen Dingen die Auswahl derjenigen maßanalytischen Technik erleichtern, welche die größte erzielbare Genauigkeit erwarten läßt.

M. K. Zacherl-Wien.

H. Vogel: **Getreidekeime und Keimöle.** Mit 4 Abb. u. 35 Tab. 124 S. Basel: Wepf & Co. 1948. sfr. 12,50.

Die vorliegende Zusammenstellung bringt in zwei Hauptabteilungen, von denen jede in mehrere Unterabteilungen zerfällt, eine Übersicht über den Stand unserer Kenntnisse über Getreidekeime und Keimöle bis Ende 1946.

Nach einer Besprechung der einzelnen Getreidefrüchte folgen ausführliche Angaben über deren anatomisch-histologischen Aufbau, ihre Chemie und Physiologie; anschließend werden auch chemische Zusammensetzung, physiologische Wirkungen und Eigenschaften der diversen Keimöle angeführt.

Der zweite Teil bringt wichtige Angaben über die Gewinnung der Keime und Keimöle, ihre Verwertung für Zwecke der Ernährung und Tierfütterung, sowie für Zwecke der chemischen und pharmazeutischen Industrie nebst Angaben der in Betracht kommenden Patente. In zwei weiteren Abschnitten werden Einzelheiten der Verwertung von Keimen und Keimölen besprochen. Ein Literaturverzeichnis, Patentregister und Sachverzeichnis beschließen das ganze Werk. Für jeden auf dem dargestellten Gebiet Tätigen ist das Werk ein wertvoller Ratgeber und auch für alle künftigen Arbeiten auf diesem Gebiet wird man das Buch nicht übersehen dürfen.

Papier und drucktechnische Ausstattung sind als sehr gut zu bezeichnen, nur sei hier auf einige, sozusagen „kosmetische" Fehler hingewiesen, die sich in einer folgenden Auflage leicht beseitigen lassen, ohne daß hiermit der Gesamtwert des Buches eine Schmälerung erfahren soll. Der Buchweizen gehört nicht zu den Getreidearten (S. 13 und 16), sondern zu den Polygonacaeen. Statt „macerisiert" (S. 104) soll es richtig heißen „maceriert". Die Druckfehler auf S. 91 „eingeteilgt" statt „eingeteilt" und „Wasesr" statt „Wasser" lassen sich leicht vermeiden. *F. Zaribnicky*-Wien.

Mitteilungen aus mikrochemischen Gesellschaften.

Activities of the Metropolitan Microchemical Society of New York 1941—1947.*

The activities of the society continued through the war without interruption. A statement of the former Secretary *Dr. Leo K. Yanowski*,[1] made in 1943 concerning the organization and its aims, may still be quoted:

„The society is in no way connected with any other organization, either local or national. It is privately financed by annual dues ($ 2.00), which have proved more than adaquate to subsidize its activities. The fiscal year begins July 1 and ends June 30. .....Membership has grown to 136."

„The officers are a chairman, vice-chairman, secretary-treasurer, and two executive members." The following have lately held the office of chairman:

Dr. Julius Kuck, American Cyanamid Company (1941—42);
Mr. David B. Sabine, Arlington Chemical Company (1942—43);
Dr. Al Steyermark, Hoffmann-La Roche, Inc. (1943—44);
Mr. Robert A. Harte, Arlington Chemical Company (1944—45);
Dr. Leo K. Yanowski, Fordham University (1945—46);
Mr. Freeman R. Swift, Fleischmann Laboratories (1946—47);
Mr. Frank A. Meier, American Platinum Works (1947—48).

Miss Bella Littmann has held the office of Secretary-Treasurer since 1945.

„Regular meetings are held once a month, the Program Committee endeavoring to arrange programs covering as diverse a field as possible, so as to interest not only the present members but also chemists desirous of information on microchemical methods applicable to their own problem. Papers read before the society have discussed physico-chemical micromethods, ultraviolet illumination in microscopy, dropping mercury electrode, chromatographic adsorption, microanalysis of gases, technical examination of ancient paintings, microscopic examination of cartridge primer materials, surface analysis, micromanipulators, micro textile technology, spectrophotometry, microbiochemical methods, the mass spectrometer, and the electron microscope."

---

* Wir veröffentlichen den nachstehenden Tätigkeitsbericht, um insbesondere unseren europäischen Lesern einen wenn auch unvollständigen Überblick über die Leistungen der Fachgenossen in den Vereinigten Staaten zu vermitteln, deren Kenntnisnahme aus der Originalliteratur infolge der Ereignisse der letzten Jahre oft weitgehend erschwert war. Wir hoffen, durch diese Ausführungen unseres Redaktionsmitgliedes der Entwicklung und dem Fortschritt auf dem Gebiet der Mikrochemie zu dienen.

Die Schriftleitung.

During the year there are usually eight or nine regular meetings. The program ordinarily provides for about eight guest speakers, the remainder being made up of contributions by members of the society.

During the last years, most of the meetings were held at the American Museum of Natural History. It has become a custom to hold the final meeting of the year at Fordham university and to select a more or less popular topic. Wives and guests of the members are cordially invited, and the meeting is immediatly preceded by the annual dinner.

In 1945, the decision was made to sponsor a series of symposia on microchemistry, one a year, for the purpose of stimulating the interest in the field. These symposia proved an outstanding success. The First Microchemical Symposium was held March 1 and 2 at the American Museum of Natural History. The School of Business of the City College of New York was the host of the Second Symposium, February 28 — March 1, 1947, which was preceded by an informal dinner in honor of the founder, *Dr. Frank Schneider*, and the first group of officers, *Dr. Willet F. Whitmore*, *Dr. Joseph B. Niederl*, and *Dr. W. Franklin Spikes*. With the third Annual Microchemical Symposium, February 27 and 28, 1948, the society returned to the American Museum of Natural History. Economy forbids entering into the details of these symposia, but programs with the abstracts of papers are probably still available on application to the Secretary of the society, *Miss Bella Littman*, Hoffmann-La Roche, Inc., Nutley, N. J.

In 1944, the society lost through death a very active and popular member, *Dr. Francis W. Power*, *S. J.*, Professor of Chemistry at Fordham University and chairman of the society in 1938—39. In his memory a plaque donated by the society and beautifully carved by his friend *Ernest M. Marshall*, member of the society, was unveiled in the Chemistry Building of Fordham University on May 16, 1946, after a brief but touching ceremony.

Bericht über die Tätigkeit der Metropolitan Microchemical Society of New York, 1941—1947.

Die monatlichen Versammlungen fanden keine Unterbrechung während des Krieges. Zweitägige mikrochemische Symposien wurden in den Jahren 1946, 1947 und 1948 an den Freitagen und Samstagen der letzten Februarwoche abgehalten. Die Vortragenden bei den monatlichen Versammlungen und den Symposien behandelten nicht nur Methoden der klassischen Mikrochemie, sondern auch Neuerungen auf den verschiedensten Gebieten, die für Mikrochemiker von Interesse sein könnten. Es soll im folgenden nur auf einige Gebiete hingewiesen werden, die in den Vereinigten Staaten besondere Förderung erfahren haben und die gelegentlich dieser Versammlungen besprochen wurden.

Wenn man sich erinnert, daß chemische Mikroskopie zuerst in den Vereinigten Staaten von *E. M. Chamot* als Lehrgegenstand eingeführt wurde, kann es nicht verwundern, daß eine ganze Reihe von Rednern sich mit der Erkennung von Stoffen mit Hilfe des Mikroskopes beschäftigten, so u. a.: *W. M. D. Bryant* von der E. I. DuPont Co. in Wilmington, Delaware; *Paul F. Kerr* und *Ralph J. Holmes* von der Columbia Uni-

versity; und *Horace Winchell* von der Yale University. Geologen und Petrographen geben den kristalloptischen Methoden den Vorzug für die Erkennung der Bestandteile in Dünnschliffen und Pulvern (gepulvertes Gestein, Bohrproben, Bodenproben, Staub). Die vorliegenden Mineralbestandteile können unmittelbar und rasch erkannt werden durch das Studium des Verhaltens im polarisierten Licht, der Achsenfiguren und die Bestimmung der charakteristischen Brechungsquotienten. Die Anwendung dieses eleganten Verfahrens zur Lösung rein chemischer Probleme ist sehr verlockend.

Es ist für den Chemiker einigermaßen überraschend, daß der Geologe für diese Arbeitsweise Kristallfragmente gut ausgebildeten Kristallen im allgemeinen vorzieht. Man muß jedoch bedenken, daß das optische Verhalten von der zufälligen äußeren Form unabhängig ist und für sich selbst zur Erkennung vollkommen genügt. Es ist jedoch für die Bestimmung der Brechungsquotienten nötig, daß die Achsen gewisse Richtungen in bezug auf die Achse des Mikroskopes einhalten. Blättchen, Nadeln und Kristallstäbchen nehmen aber immer gewisse bevorzugte Lagen ein, die für den Zweck unerwünscht sein können. Dagegen werden die einzelnen Teilchen einer Ansammlung von Kristallfragmenten auf dem Objektträger alle denkbaren Orientierungen der optischen Achsen bieten. Teilchen, die die optischen Achsen parallel zum Strahlengang haben, können dann schnell erkannt und zur Untersuchung der Achsenbilder herangezogen werden. Auch können die höchsten und niedrigsten Werte des Brechungsquotienten bei Anwendung einiger Einbettungsflüssigkeiten schnell festgestellt werden. *Alexander N. Winchell*[2] befürwortet den Gebrauch des Fedorowschen Universaltisches in Kombination mit der doppelten Variationsmethode von *R. C. Emmons*, bei welcher Gleichheit der Refraktion durch Änderung der Temperatur und der Wellenlänge des Lichtes bewirkt wird.

Horace Winchell betonte, daß die optischen Daten, falls nötig, an zwei oder drei Körnchen von 10 μ Durchmesser bestimmt werden können. Es ist leichter, wenn die Teilchen einen Durchmesser von etwa 100 μ haben und einige Milligramm Material zur Verfügung stehen. Die praktischen Grenzen der Anwendbarkeit sind wesentlich durch die beschränkte Genauigkeit der Bestimmung der Lichtbrechungsquotienten — gewöhnlich $\pm$ 0,002 — und den Mangel von geeigneten Einbettungsflüssigkeiten von größerer Refraktion als 2 gegeben. Es wurde auch darauf hingewiesen, daß die Zusammensetzung kristalliner Stoffe und mithin ihre physikalischen Konstanten infolge Mischkristallbildung innerhalb weiter Grenzen schwanken können. Dies kann zur Bestimmung der chemischen Zusammensetzung benutzt werden, mag aber auch Ungewißheit hervorrufen, wenn zwei oder mehr isomorphe Serien sich teilweise in ihren physikalischen Konstanten gleichen.

Kurt J. Heinicke von der Bausch and Lomb Optical Company, Rochester, N. Y., erwähnte die Entdeckung von besser fluoreszierenden Schirmen für das Einstellen des Bildes beim Arbeiten mit ultraviolettem Licht. Es ist auch zu erwarten, daß ähnliche fluoreszierende Schirme für mikroskopische Arbeit mit infrarotem Licht in Zukunft verfügbar sein dürften. Das Phasenmikroskop ermöglicht die Sichtbarmachung außerordentlich kleiner Refraktionsunterschiede durch die Verwendung eines Systems von Blenden und Platten zur Erhöhung des Gangunterschiedes ähnlich wie in einem Schlierenmikroskop.

Das Elektronenmikroskop wurde von *Perry Smith* und von *M. C. Banca*, beide von der RCA Manufacturing Company, Camden, N. J., besprochen. *I. Fankuchen*, Polytechnic Institute of Brooklyn, beschrieb Hilfsgeräte und Verfahren für das Studium des Verhaltens kleiner Kristalle gegenüber Röntgenstrahlen. Ein Kristall von 0,1 × 0,01 × 0,01 cmm genügt zur Bestimmung der Dichte und des Molekulargewichtes. Außerdem können Anhaltspunkte betreffend die Größe und Gestalt des Moleküls gewonnen werden.

George L. Royer und *Julius A. Kuck*, beide von der American Cyanamid Company, berichteten über Bestrebungen, auf dem Gebiete des Apparate- und Waagenbaues Verbesserungen herbeizuführen und gewisse Normen festzulegen. Ein Ausschuß für die Normalisierung mikrochemischer Apparate wurde von der Division of Analytical and Micro Chemistry der American Chemical Society ernannt und hatte als Mitglieder *G. L. Royer*, *L. T. Hallet*, *H. K. Alber* und *J. A. Kuck*. Die Erzeuger waren durch einen Ausschuß von den Scientific Apparatus Makers of America vertreten. Bezüglich der Dimensionierung der Apparate für die Mikrobestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff und für die Stickstoffbestimmung nach Dumas konnte vollständige Einigung erzielt werden. Der Ausschuß für das Studium von mikrochemischen Waagen wurde von der Division of Analytical and Micro Chemistry der American Chemical Society im Jahre 1940 ins Leben gerufen (*C. J. Rodden*, National Bureau of Standards; *A. A. Benedetti-Pichler*, Queens College of the Coll. of the City of N. Y.; *A. H. Corwin*, Johns Hopkins University; *H. C. Huffmann*, Microchemical Laboratory, Denver, Colorado; *F. W. Power*, Fordham University, New York; *J. A. Kuck*, zur Zeit am City College of the College of the City of New York). Publikationen[3, 4] in den Zeitschriften der American Chemical Society zeigen verschiedene Schwierigkeiten auf, die mit der Konstruktion hochempfindlicher Waagen verbunden sind.

Donald D. van Slyke, Rockefeller Institute for Medical Research, gab bei zwei Gelegenheiten in großen Umrissen die Geschichte der Entwicklung seiner manometrischen Mikromethoden, die nahezu universell angewendet werden können. Die nasse Verbrennung von Fett, Fett-

säuren, Cholesterin usw. benötigt nur 15 Minuten und die Bestimmung von Metallen ist durch Fällung organischer Verbindungen mit nachfolgender nasser Verbrennung und Bestimmung des gebildeten Kohlendioxyds im Prinzip allgemein durchführbar.

Die Gegenstromextraktion hat in zwei Formen in letzter Zeit Aufmerksamkeit auf sich gelenkt. *Lyman C. Craig*, Rockefeller Institute for Medical Research, hat eine einfache Vorrichtung entwickelt, die es gestattet, wiederholte Extraktionen in kurzer Zeit auszuführen und den Verteilungskoeffizienten als charakteristische physikalische Konstante zu bestimmen. Die Gegenstromverteilung über zwei Lösungsmittel kann nicht nur zur Trennung dienen, sondern auch für die Erkennung und für den Nachweis der Reinheit Verwendung finden[5, 6, 7] und eignet sich besonders zur Charakterisierung labiler Substanzen, für die weder Destillation noch Kristallisation zur Abtrennung herangezogen werden können.

R. J. Block sprach über die von *Consden*, *Gordon* und *Martin*[8] eingeführte Verteilungschromatographie,* die zur Trennung kleiner Mengen von Aminosäuren, Zuckern und Fettsäuren mit Erfolg verwendet wurde. Ein Streifen Filtrierpapier wird mit Wasser getränkt. Ein Ende wird in einen Trog, der ein geeignetes, mit Wasser gesättigtes Lösungsmittel enthält, eingetaucht und diese ganze Anordnung in eine mit Wasserdampf gesättigte Atmosphäre gebracht. Das Papier dient nur als Träger für die stationäre wäßrige Lösung und den langsamen Strom des anderen Lösungsmittels, welches sehr langsam von dem Trog den hängenden Papierstreifen entlang herunterfließt. Es ist möglich, etwa 20 Aminosäuren in einem Hydrolysat von 0,2 bis 0,4 mg Protein nachzuweisen.

P. M. Doty vom Polytechnic Institute of Brooklyn und später *Peter Debye*, Cornell University, Ithaka, N. Y., sprachen über die optische Methode zur Bestimmung des Molekulargewichtes und der Größe und Form der Moleküle. Diese Methode ist auf die Bestimmung der Trübung der Lösung und der Refraktion von Lösung und Lösungsmittel aufgebaut. Da bei gegebener Konzentration die Trübung mit dem Molekulargewicht zunimmt, wächst die Verläßlichkeit der optischen Methode mit dem Molekulargewicht. Hochpolymere Moleküle erreichen oft die Größenordnung der Wellenlängen des sichtbaren Spektrums. In solchen Fällen wird die Intensität des reflektierten Lichtes eine Funktion der Richtung der Reflexion, weil Strahlen, die von verschiedenen Teilen des Moleküls kommen, miteinander interferieren. Die Größe des Moleküls kann in diesen Fällen direkt als eine Funktion von Reflexionswinkel und Lichtstärke errechnet werden, ähnlich wie man die Atomabstände in kleinen

* Es sei hier besonders auf eine interessante Sammlung von Artikeln verwiesen, die unter dem Titel „Chromatography" als Separatabdruck von Band 49, S. 141 bis 316 der Annals von der New York Academy of Sciences bestellt werden können.

Molekülen aus den mit Röntgenstrahlen beobachteten Reflexionswinkeln ableitet.

Albert E. Sobel vom Jewish Hospital of Brooklyn, dessen Laboratorium der Kinderklinik angegliedert ist, hatte dadurch eine besonders günstige Gelegenheit, die Entwicklung der klinischen Mikromethoden zu beobachten. Nach seiner Erfahrung wird heute zuweilen die Bestimmung von bis zu 30 Blutbestandteilen an einer Probe gewünscht. Dabei kann man besonders bei Neugeborenen natürlich nur sehr kleine Blutproben nehmen. Diesen Anforderungen kann man nur mit Mikrogrammverfahren gerecht werden. *Dr. Sobel* bevorzugt von diesen besonders die von *Linderstrom-Lang, P. L. Kirk* und von ihm selbst ausgebildeten titrimetrischen Methoden. Die gasometrischen Verfahren findet er zu zeitraubend, wenn es sich um die Durchführung einer großen Zahl von Bestimmungen handelt. Letzteres wurde durch geeignete Auswahl der Arbeitsmethoden möglich gemacht, so z. B. durch gleichzeitige Destillation von 60 bis 80 Ammoniakbestimmungen (Kjeldahl und Harnstoff), Benutzung von Trockenschränken für die Verdampfung von Lösungsmitteln, Gebrauch von automatisch sich füllenden Büretten und von Spritzenpipetten für das automatische Abmessen von Lösungen. Die Verläßlichkeit der Resultate wird durch Ausführung von Doppelbestimmungen, Einschaltung von Kontrollproben und Zusatz bekannter Mengen des zu bestimmenden Stoffes zu ausgewählten Proben unter Beobachtung der Wiedergewinnung sichergestellt.

Elektrodialyse kann mit Vorteil an Stelle des Veraschens treten, wenn es sich um die Bestimmung von Kationen handelt. Verlust flüchtiger Metalle wird dadurch verhindert und gleichzeitig wird man die störende Phosphorsäure von vornherein los.

Bezüglich der kolorimetrischen Verfahren genügt es, die Lösungsmengen auf ein Zehntel zu verkleinern und ein Mikrokolorimeter zu benützen. *O. H. Lowry*[9] vom Public Health Research Institute of the City of New York, ging in dieser Beziehung einen Schritt weiter, indem er ähnlich wie *Kirk** ein Beckmann-Spektrophotometer zur Untersuchung der in einer Kapillare von 30 cmm Inhalt befindlichen gefärbten Lösung verwendete. *D. L. Drabkin* vom Department of Physiological Chemistry der University of Pennsylvania, Philadelphia, wies darauf hin, daß Absorptionsspektrophotometrie tatsächlich empfindlicher gemacht werden

---

* *Kirk, Rosenfels* und *Hanahan* fanden „Teflon", ein undurchsichtiges plastisches Material für die Herstellung koloriskopischer Kapillaren von 2 und 4 mm Lumen und 5 cm Länge, die mit auswechselbaren Deckgläsern versehen sind. Bei Verwendung eines Meßkolbens von 0,2 ml Inhalt für die Entwicklung der Färbung läßt sich auf diese Weise die Erfassungsgrenze kolorimetrischer (spektrophotometrischer) Methoden auf 0,0001 γ herabdrücken.

kann als Emmissionsspektrographie. *Drabkin* und *Austin* verwenden eine Küvette, die eine Schichtdicke von nur 70 μ hat, für die Untersuchung sehr konzentrierter Lösungen oder Zellsuspensionen und eine kolorimetrische Kapillare für Mikrospektrophotometrie. Die Bestimmung mehrerer Bestandteile in einer Lösung ist oft durchführbar. Auch ist die genaue Bestimmung der Absorptionsspektren trüber Medien möglich, so daß sich z. B. die Sauerstoffsättigung des Hämoglobins im zirkulierenden Blut in vivo bestimmen läßt.

A. W. Pollister[10] vom Department of Zoology der Columbia University hat mit *A. E. Mirsky* vom Rockefeller Institute of Medical Research ein photometrisches Verfahren zur Bestimmung des Proteins in Dünnschnitten ausgearbeitet, das imstande ist, noch 0,00000001 γ Tyrosin zu erfassen. Es wird mit Vergrößerungen bis über 1000fach gearbeitet. Die Lichtdurchlässigkeit einer bestimmten Stelle des Dünnschnittes wird vor und nach dem Behandeln mit Millonschem Reagens durch Einschalten einer photoelektrischen Zelle gemessen. Die gefundene Differenz in der Durchlässigkeit ist lediglich durch die Intensität der erhaltenen Färbung bestimmt. Versuche haben gezeigt, daß die Lichtabsorption der Schichtdicke proportional und — trotz der hohen Konzentrationen — dem Tyrosingehalt ungefähr proportional ist. Damit ist die Möglichkeit gegeben, die verschiedenen Bausteine einer Zelle im Hinblick auf ihren Eiweißgehalt vergleichend zu untersuchen. Nach den Mitteilungen von *K. J. Heinicke* ist zu erwarten, daß auch die ultraviolette und ebenso die infrarote Region in Zukunft zu solchen Studien herangezogen werden können.

Dieser sehr lückenhafte Auszug aus den Sitzungsprotokollen mag bereits genügen, das beständige Wachstum und Gedeihen der Metropolitan Microchemical Society verständlich zu machen. Es sei der Hoffnung Ausdruck gegeben, die getroffene Auswahl möge dazu dienen, die Aufmerksamkeit auf einige charakteristische Richtungen und Eigenheiten in der Entwicklung der Mikrochemie in den Vereinigten Staaten hinzulenken.

A. A. Benedetti-Pichler, New York.

Literatur.

[1] *Leo K. Yanowski*, Chem. Eng. News, **21**, 301 (1943).

[2] *A. N. Winchell*, The Microscopic Characters of Artificial Inorganic Solid Substances or Artificial Minerals, 2nd Ed., John Wiley & Sons, New York, N. Y., 1931.

[3] Committee report, Reproducibility of Weighings Made on Microchemical Balances, Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. **15**, 415 (1943).

[4] *A. H. Corwin*, Microchemical Balances. Errors of Kuhlmann Balance, Ind. Engng. Chem., Analyt. Edit. **16**, 258 (1944).

[5] *L. C. Craig*, J. Biol. Chemistry **150**, 33 (1943); **155**, 519 (1944); **161**, 321 (1945); **162**, 363 (1946); Science (New York) **103**, 587 (1946).

[6] *L. C. Craig, H. Mighton, E. Titus* and *C. Golumbic*, Anal. Chem. **20**, 134 (1948).

[7] *M. T. Bush* and *P. M. Densen*, Anal. Chem. **20**, 121 (1948).

[8] *R. Consden, A. H. Gordon* and *A. J. P. Martin*, Biochemic. J. **38**, 224 (1944).

[9] *P. L. Kirk, R. S. Rosenfels* and *D. J. Hanahan*, Anal. Chem. **19**, 355 (1947); siehe auch *O. H. Lowry* and *O. A. Bessey*, J. Biol. Chemistry **163**, 633 (1946).

[10] *A. E. Mirsky* and *A. W. Pollister*, J. Gen. Physiol. **30**, 117 (1946).

Society of Public Analysts and other Analytical Chemists.

MICROCHEMISTRY GROUP.

Symposium on the Analysis of Traces and Ultra Micro Quantities.

A series of papers dealing with the analysis of traces and ultra micro quantities was read at a joint meeting of the Microchemistry Group of the Society of Public Analysts and other Analytical Chemists and the sections of the three chartered societies, held in the Chemistry Department, Marischal College, Aberdeen on May 4th and 5th, 1948. The following papers were read.

Ultra Micro Methods

by Dr. *Cecil L. Wilson*, Queens University, Belfast.

Ultra micro methods in chemistry, which deal with quantities of the order of 1 microgram and with volumes measured in fractions of a cubic millimetre came to the fore in atomic energy research, where they were successfully applied to the investigation of the chemistry of the trans-uranic elements. They were, however, first developed by biologists, and have numerous possible chemical applications. Manipulations which are carried out under a low power microscope are not inordinately difficult, and the accuracy is surprisingly good, as instanced by the fact that the Hanford plant was designed on the basis of a direct scale-up of 10^{10} on the methods of separation worked out on the microgram scale. The paper was illustrated by specimens of the apparatus used and typical precipitations, and by slides showing the type of manipulations involved.

Simultaneous Concentration of Trace Elements with Organic Precipitants

by Dr. *R. L. Mitchell*, Macaulay Institute for Soil Research, Aberdeen.

A technique has been developed for the recovery of microgram quantities of trace elements from soil extracts and plant materials in a carrier precipitate containing about 30 mg. Al_2O_3 and 5 mg. Fe_2O_3 after ashing. This concentrate is suitable for subsequent spectrographic analysis. Precipitation with 8-hydroxyquinoline alone at pH 5,1 in a solution buffered with ammonium acetate gives complete recovery of Co, Ni, Mo, Cr, V, Sn, Pb, Be, Ge, Ti, and Zn, and probably also other elements. The alkaline earth and alkali metals and phosphate are not precipitated when present in amounts up to 100 mg. The ranges investigated were 2—50 g. for Co, Ni, Mo, Cr and V, and 5—100 g. for other elements except Zn which was studied over the range 0,2—4,0 mg.

Trace Determinations by means of the Polarographic Method of Analysis

by Mr. *G. W. C. Milner*, Bragg Laboratory, Sheffield.

The chloride base electrolyte has proved very useful in the polarographic method for the determination of trace amounts of different elements. In metallurgical analysis, for example, it has been successfully used for such determinations as traces of copper, lead, cadmium and tin in zinc metal and zinc base alloys, traces of lead in aluminium and magnesium alloys, traces of lead, tin, nickel and zinc in copper base alloys and very many other trace determinations.

This same base electrolyte has now also found a wide application in the determination of traces of cadmium, tin, lead, and zinc in biological materials and soils, but often only after suitable extraction and concentration techniques have been utilised. Traces of copper are an exception since the polarograms given by small amounts of copper in a citrate base electrolyte have been found to be better defined and reproducible than the polarograms given in a chloride medium.

Microdiffusion Analysis

by Dr. *T. G. Brady*, Department of Biochemistry, University College, Dublin.

The principle of microdiffusion analysis consists in the absorption by simple gaseous diffusion of a volatile substance from a vessel where it exerts a certain tension into another vessel where its tension is reduced to zero on the absorbing fluid. The conditions necessary for rapid absorption, were discussed, and shown to vary with the nature of the volatile material.

The three types of Conway unit, as well as a number of diffusion cells designed for the determination of total nitrogen in very small samples were described.

The conversion and use of the Conway burette, in conjunction with small hand-made units of paraffin wax in „drop-scale" analysis was demonstrated. As an example of the use of this method for ultra micro determinations, the analysis of samples containing from 0,1 mg. — 2,0 mg. of ammonia was described.

The Microscope as a Chemical Tool

by Dr. *Cecil L. Wilson*, Queens University, Belfast.

The microscope as a chemical tool may be employed for the recognition of characteristic crystalline precipitates, for observation of optical properties, or for the measurement of other physico-chemical constants.

In the inorganic field, where the first of these uses preponderates, considerable use is possible in ordinary analytical schemes in conjunction with spot-test methods. Studies of possible interferences are essential if the methods are not to be misleading, but a rigid solution of a problem is often made possible by a judicious use of the instrument. Organic analysis often demands investigation of optical properties for the satisfactory recognition of the separate members of homologous series although distinctive crystal forms are still used widely. A number of physico-chemical constantes such as molecular weight, refractive index and specific gravity may be determined readily on micro quantities. Typical crystal forms, apparatus and methods were illustrated by a range of lantern slides.

R. Belcher-Aberdeen, Hon.-Secr.

Österreichische Gesellschaft für Mikrochemie.

Am 11. Mai d. J. fand am Pharmakologischen Institut der Universität Graz der erste Vortragsabend der Gesellschaft statt. Prof. Dr. *R. Fischer* sprach über „Mikromethoden zur Identifizierung organischer Substanzen".

An Hand zahlreicher Diapositive und Farbfilme gab der Vortragende einen Überblick über die Möglichkeit zur Identifizierung organischer Verbindungen mit Hilfe der von *Kofler* und seinen Mitarbeitern ausgearbeiteten Methoden. Ausgehend vom Mikroschmelzpunkt wurden alle von dieser Schule aufgezeigten Verfahren vorgeführt, im besonderen ihre Anwendung auf organisch-pharmazeutischem Gebiet. Man sah die Bestimmung der Brechungsindizes von Schmelzen mittels geeichter Glaspulver, die Erkennung eutektischer Gemische und die Bestimmung ihres Schmelzpunktes mit und ohne Verwendung der Kontaktmethode, die quantitative Analyse von Gemischen, die Erkennung und den Nachweis von Kristallwasser und vieles andere. Von besonderem Interesse war auch der Hinweis auf die gegenwärtig durchgeführten Versuche zur Identifizierung metall-organischer Verbindungen. Flüssigkeiten lassen sich durch Bestimmung ihres Siedepunktes, ihrer kritischen Temperatur, der Entmischungstemperatur, des Brechungsindex usw. erkennen und trennen. Alle diese Methoden gestatten unter dem Mikroskop die Verwendung kleinster Mengen (ein oder mehrere Kriställchen bzw. Milligramme).

Dr. Ing. *Hanns Malissa*, Sekretär.

Berichtigung.

In der Abhandlung „Der Cartesianische Taucher" (Mikrochemie XXXIII/4, 1948) soll es heißen:

S. 376, 13. Zeile von oben: richtig „*Linderstrøm-Lang*".

S. 384, Lit. zitat 10: richtig „S. 1132—1162" statt „S. 1138";
richtig „Herausgeber Bamann u. Myrbäck. Verlag Thieme, Leipzig (1941)" statt „Verlag Bamann u. Myrbäck (1941)".

Herausgeber und Eigentümer: Springer-Verlag in Wien I, Mölkerbastei 5. — Für den Inhalt verantwortlich: Prof. Dr. *Michael Karl Zacherl*, Wien XIX, Chimanistraße 21. — Druck: Manzsche Buchdruckerei, Wien IX, Lustkandlgasse 50 — 101/48/4 221.